

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Lehrstuhl: Prof. Dr. W. Leidl

und

dem Besamungsverein Neustadt a. d. Aisch e. V.
Leitender fachtechnischer Direktor: Dr. Rudolf Hahn

Untersuchungen zur Maximierung der Samenausbeute
erbwertgeprüfter Bullen in der künstlichen Besamung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Hermann Schuh
aus
Neustadt a. d. Aisch

München 1988



Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Lehrstuhl: Prof. Dr. W. Leidl

und

dem Besamungsverein Neustadt a. d. Aisch e. V.
Leitender fachtechnischer Direktor: Dr. Rudolf Hahn

Untersuchungen zur Maximierung der Samenausbeute
erbwertgeprüfter Bullen in der künstlichen Besamung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Hermann Schuh
aus
Neustadt a. d. Aisch

München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. W. Leidl

Korreferent: Prof. Dr. Dr. h.c. G. Dirksen

Tag der Promotion: 26. Februar 1988

NEHMEN ZANFELIC
GEWIDMET

Diese Arbeit wurde aus Mitteln der
Dr. Dr. h. c. Karl-Eibl-Stiftung gefördert



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554827_0094

MEINER FAMILIE

GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATUR	3
2.1. Zusammenhänge zwischen Befruchtungsvermögen und einer Minimierung der Anzahl der Spermien pro Samendosis (SpD)	3
2.2. Das Non-Return-(NR)-Verfahren und seine Bedeutung als Fruchtbarkeitsparameter	4
2.3. Vergleich verschiedener Konfektionierungsverfahren im Hinblick auf Spermaqualität und Befruchtungsfähigkeit	5
2.4. Einfluß von Auftauzeit und -temperatur auf die Spermienqualität und deren Befruchtungsvermögen der Samenzellen	7
2.5. Spermaqualität und ihre Beziehung zum Befruchtungsvermögen	8
2.6. Untersuchungen über die Mindestanforderungen hinsichtlich der Anzahl der Spermien pro Samendosis bei verschiedenen Konfektionierungen	11
2.6.1. Ampullen	12
2.6.2. Pellets	13
2.6.3. Minitübs	14
2.6.4. Pailletten	14
2.7. Einfluß des Bullen auf die Fertilität und auf die Minimierung der Anzahl der SpD	16
3. MATERIAL UND METHODEN	24
3.1. Bullen	24
3.2. Samenproduktion	25
3.2.1. Samengewinnung	25
3.2.2. Untersuchung und Konfektionierung des Ejakulates	26
3.2.2.1. Berechnung des Verdünnungsgrades	26
3.2.2.2. Herstellung der VS 5, 10 und 20	28
3.2.2.3. Kennzeichnung der Pailletten	31
3.2.3. Abkühlen und Adaptation	32
3.2.4. Tiefgefrieren und Wiederauftauen	32
3.3. Einsatz der Ejakulate	33
3.4. Statistische Methoden	34

	Seite
4. ERGEBNISSE	35
4.1. NR-Ergebnisse der Verdünnungsstufen	35
4.2. NR-Ergebnisse der Bullenbefruchtergruppen unter Ein- beziehung der Verdünnungsstufen	37
4.2.1. Befruchtungsergebnisse bei Kalbinnen und Kühen	39
4.2.2. Befruchtungsergebnisse bei der Gesamtauswertung	41
4.3. Beziehungen zwischen den NR-Ergebnissen und der Vor- wärtsbeweglichkeit der Spermien im Nativejakulat und nach dem Auftauen	44
4.4. Einfluß des Bullen, der Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien pro Samendosis sowie der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien auf die Non-Return-Rate (NRR)	46
5. DISKUSSION	47
6. ZUSAMMENFASSUNG	53
7. SUMMARY	56
8. LITERATURVERZEICHNIS	59

1. EINLEITUNG

Die künstliche Besamung (KB) stellt heute einen bedeutenden und unverzichtbaren Faktor innerhalb der Tierzucht dar. Aufgrund ihrer züchterischen, wirtschaftlichen und zuchthygienischen Vorteile konnte sie sich weltweit zu einem angewandten Routineverfahren etablieren. Insbesondere hat die Entwicklung erfolgreicher Spermatechnologien zur Tiefgefrierkonservierung, wie z. B. die Tiefgefrierung in flüssigem Stickstoff und die Konfektionierung in Pailletten, hierzu wesentlich beigetragen. Aufbewahrung und Transport des Genmaterials wertvoller Vartiere sind dadurch weitgehend unabhängig von Zeit und Raum geworden. Die künstliche Besamung schafft somit die Möglichkeit einer nahezu optimalen Ausschöpfung des genetischen Materials erbwertgeprüfter Bullen und bildet darüber hinaus den Grundstein für eine leistungsfähige Zuchtarbeit durch Selektion und gezielte Paarung wertvoller Erbträger.

Die ständige Nachfrage nach gutem Zuchtmaterial zwingt jedoch dazu, weitere Möglichkeiten einer Erhöhung der Effektivität und Auslastung wertvoller Vartiere zu prüfen und, wenn nötig, bisher für die Besamungspraxis gültige Festlegungen zu revidieren. Neben den Verbesserungen der Spermaqualität durch eine optimale Gestaltung der Umwelt der Samenspenden, einer einwandfreien Gewinnung und Aufbereitung der Ejakulate und den Verbesserungen der Behandlung des Tiefgefriersamens rückt die Frage nach der benötigten Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien pro Besamungsdosis immer wieder in den Vordergrund des Interesses. Einerseits soll dabei das genetische Potential begehrter Vartiere maximal genutzt werden, andererseits darf aber das Befruchtungsergebnis nicht beeinträchtigt werden. Für eine Befruchtung werden in der Regel ca. 10×10^6 vorwärtsbewegliche Spermien für ausreichend angesehen (LEIDL 1966). Beim Besamungsverein Neustadt a. d. Aisch e. V. wird ein Verdünnungsgrad angestrebt, der 10 bis 15×10^6 vorwärtsbewegliche Spermien nach dem Auftauen pro Besamungsdosis erwarten läßt. Eine maximale Ausnutzung der Ejakulate bei Aufrechterhaltung einer möglichst hohen Befruchtung schließt aber auch die Berücksichtigung der Fruchtbarkeit des Bullen und der Spermaqualität ein.



Ziel dieser Untersuchungen war es daher, unter den Routinebedingungen des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e. V. Mindestanforderungen hinsichtlich der Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen pro Besamungsdosis im Hinblick auf die Fruchtbarkeit des Bullen zu erarbeiten. Weiterhin sollten Beziehungen zwischen der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien im Nativzustand und nach dem Auftauen zur Non-Return-Rate überprüft werden.

2. LITERATUR

2.1. Zusammenhänge zwischen Befruchtungsvermögen und einer Minimierung der Anzahl der Spermien pro Samendosis (SpD)

Eine Maximierung der Ejakulatsausbeute aufgrund der Nachfrage nach gutem Zuchtmaterial darf durch eine Reduzierung der Anzahl der SpD nicht zu Einbußen beim Befruchtungsvermögen führen. Die Variationsbreite der Fertilitätsrate dürfte aber maximal nur zu 60 % durch den Samen, also durch die männliche Seite, der Rest durch die weibliche Seite beeinflusst werden (LINFORD et al. 1976).

Nach SHANNON (1978) ist die Fertilitätsrate im wesentlichen von drei Faktoren abhängig:

- 1) von der Insemination einer ausreichenden Anzahl an SpD
- 2) von der Überlebensrate der Spermien im weiblichen Genitaltrakt
- 3) vom Inseminationszeitpunkt im Verhältnis zur Ovulation.

Die Fruchtbarkeitsrate steht des weiteren im engen Zusammenhang zur Anzahl der vorwärtsbeweglichen SpD nach dem Auftauen (BISHOP et al. 1954, GRAHAM et al. 1978, PACE 1980, PACE et al. 1981, WOOD et al. 1986; GSCHWEND 1986).

Eine Reduzierung der Anzahl der SpD unter der Bedingung einer gleichbleibenden Befruchtungslage ist gekennzeichnet durch eine multifaktorielle Abhängigkeit. So ist die für die Befruchtung notwendige Anzahl der SpD abhängig vom verwendeten Verdünner, den Verarbeitungsmethoden, dem Tiefgefrieren, dem Konfektionieren (PICKETT und BERNDTSON 1978), den Auftaumethoden (BERNDTSON und PICKETT 1980, PACE et al. 1981), der Spermaqualität (SULLIVAN 1970, COUROT et al. 1965), der Fruchtbarkeit des Bullen (SULLIVAN und ELLIOT 1968, SULLIVAN 1970, HAFS et al. 1970, UWLAND 1984a) und der Rasse des Bullen (SULLIVAN 1970).

Eine mindere Spermaqualität kann aber nur bedingt durch eine niedrigere Verdünnung ausgeglichen werden (SULLIVAN 1970, COUROT et al. 1965).

2.2. Das Non-Return-(NR)-Verfahren und seine Bedeutung als Fruchtbarkeitsparameter

Bei einer sorgfältigen Beobachtung der besamten Rinder ist es gewöhnlich möglich, wieder brünstig gewordene Tiere zu erkennen und der Nachbesamung zuzuführen.

Alle innerhalb eines definierten Zeitraumes nicht mit einer erneuten Brunst vorgestellten (non-return) Rinder werden als trächtig bezeichnet (BUSCH 1982). Die Non-Return-Rate (NRR) entspricht also dem Prozentsatz der Tiere, die innerhalb einer bestimmten Frist, z. B. 30, 60, 90 oder 120 Tage, nach der Erstbesamung nicht einer Zweitbesamung unterzogen wurden, von denen man also annehmen darf, daß sie konzipiert haben. Sie wird heute in der Regel über EDV ausgewertet.

In Wirklichkeit liegen die 60-90 Tage NR-Ergebnisse 5 - 10 % über den effektiven Trächtigkeitsergebnissen. Dieser Unterschied rührt daher, daß es außer der Trächtigkeit eine Reihe anderer Gründe gibt, warum "nicht-gravide" Tiere nicht innerhalb des definierten Zeitraumes zu einer Nachbesamung angemeldet werden: übersehene Brunst oder Stillbrünstigkeit, Afunktion der Ovarien, Zysten, Endometritis, Verkauf, Schlachtung usw.. Je größer der Abstand zwischen der Erstbesamung und der Auswertung der Nachbesamung wird, desto mehr nähert sich das NR-Ergebnis dem Prozentsatz der effektiv trächtigen Tiere (BERCHTOLD 1982).

Bei der Wahl eines geeigneten Fruchtbarkeitsparameter soll jedoch ein Kompromiß zwischen früher Erfäßbarkeit und möglichst großer Sicherheit geschlossen werden. MAIJALA (1978) schlägt vor, in der Regel mehrere Fruchtbarkeitsparameter gleichzeitig heranzuziehen. JANSON (1976) gibt den Besamungsindex wegen der höheren Heritabilitätsschätzwerte den Vorzug gegenüber der NRR. Für MAIJALA (1978) jedoch wird der Nachteil der NRR durch ihre leichte Erfäßbarkeit ausgeglichen. Allerdings sollte dabei ein fixer Bezugspunkt, wie z. B. der 60. Tag genommen werden (Schweiz 75. Tag, Skandinavien 56. Tag). Nach KRÄUSSLICH (1981) ist die NRR zur Beurteilung der Fruchtbarkeitsleistung von Besamungsbullen bislang am besten geeignet.

Sie wird entsprechend den Untersuchungen von GASTEIGER (1980) signifikant beeinflusst durch folgende systematische Faktoren:

- Besamungsjahr
- Besamungsmonat
- Besamungstechniker/Gebiet
- Alter des besamten Tieres
- Rastzeit

Eine Korrektur auf den Betriebseffekt kann die Zuchtwertschätzung der NRR nur dann verbessern, wenn eine zufällige Verteilung der Besamungen auf die Betriebe nicht gewährleistet ist (KRÄUSSLICH et al. 1977, MAIJALA 1978).

2.3. Vergleich verschiedener Konfektionierungsverfahren im Hinblick auf Spermaqualität und Befruchtungsfähigkeit

Bei einem Vergleich zwischen Ampullen, Pellets und Pailletten schnitten die Pellets am besten ab (BERNDTSON und FOOTE 1972). Der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien bei Bullensperma, dem 10 Sekunden vor der Pelletierung Glycerin zugesetzt worden war, betrug nach dem Auftauen 44 %. Dieser Wert war signifikant höher als der für Bullensperma, das 6 Stunden nach Glycerinzusatz in Pelletform (39 %), in Ampullen (32 %) oder in Pailletten (35 %) tiefgefroren worden war.

Ampullen mit unterschiedlichem Volumen zu 0,5 ml und 0,9 ml und verschiedenen Verdünnungsstufen wurden von HAFS et al. (1970) verglichen. Dabei wurde in der Untersuchung mit einem Inseminationsvolumen von 0,5 ml bei 24×10^6 Gesamt-Spermien nahezu die höchste NRR erzielt, während sich bei der Untersuchung mit 0,9 ml Inseminationsvolumen bei 24×10^6 Gesamt-Spermien die niedrigste NRR einstellte.

HAHN et al. (1969) stellten in einem Versuch die Ampulle (1 ml) der mittleren Paillette (0,5 ml) gegenüber und untersuchten deren Befruchtungsergebnisse. Hierbei rangierte die Ampulle um 1,61 % in der NRR (60-90 Tage) vor der mittleren Paillette. Der Unterschied war signifikant. Bei Bullen mit gutem Befruchtungsvermögen wurde dagegen kein

signifikanter Unterschied nachgewiesen. Dagegen ermittelte BEAN (1972) bei einem Vergleich der NRR (60-90 Tage) zwischen Ampulle und Paillette für die Paillette bei 5544 Erstbesamungen ein um 1,2 % besseres Ergebnis.

Die Ampulle zu 0,5 ml und die mittlere Paillette (0,5 ml) waren ebenfalls Gegenstand einer Arbeit von PACE und SULLIVAN (1978). Die mittlere Paillette erbrachte dabei nach Auftauen in 37°C warmem Wasser bei den Spermien signifikant mehr intakte Akrosomen, eine höhere Akrosin-Aktivität und eine höhere Glutamat-Oxalacetat-Transaminase-(GOT)-Aktivität. Die Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien unterschied sich nicht signifikant. Wurde jedoch eine Inkubation bei 37°C durchgeführt, zeigten sich bei den oben genannten vier Kriterien der Spermienqualität hoch signifikant bessere Werte bei der Paillette.

Nach PICKETT et al. (1978) erbrachte die Paillette ebenfalls in 14 von 21 vergleichenden Untersuchungen zu der Ampulle höhere durchschnittliche Befruchtungsraten.

JONDET (1968 und 1972) und CASSOU (1968 und 1972) verglichen Pailletten mit unterschiedlichen Volumina. In diesen Untersuchungen zeichnete sich eine Überlegenheit der feinen Paillette (0,25 ml) hinsichtlich der Spermienqualität nach dem Auftauen ab, Dosisvolumen und die Anzahl der SpD hatten hierbei praktisch keine Auswirkung auf das Befruchtungsvermögen.

Bei einem Vergleich zwischen Minitübs und Kombipellets schnitten die Kombipellets bei 3754 Erstbesamungen mit 69,0 % gegenüber 68,0 % bei Minitübs besser ab. Diese Differenz zwischen beiden Methoden war nicht signifikant (ROOS et al. 1974).

2.4. Einfluß von Auftauzeit und -temperatur auf die Spermienqualität und die Befruchtungsfähigkeit der Samenzellen

Das Auftauen des Tiefgefrier-(TG)-Spermas stellt einen wichtigen Faktor im Gefüge der künstlichen Besamung dar, der die Samenqualität nach dem Auftauen maßgeblich beeinflusst (PACE et al. 1981, ALMQUIST 1976, BERNDTSON et al. 1976, BERNDTSON und PICKETT 1980, PAPA 1982, KLEIN 1985) und entsprechend auch die Befruchtungsergebnisse (KUPFERSCHMIED und GAILLARD 1981, PACE et al. 1981, ALMQUIST et al. 1982, PAPA 1982, KLEIN 1985).

Man wies nach, daß längere Auftauzeiten und höhere Auftautemperaturen bessere Befruchtungsergebnisse erbrachten. So konnte KLEIN (1985) bei mittleren Pailletten (0,5 ml) mit 40°C warmem Wasser und 30 Sekunden Auftauzeit eine um 0,7 % bessere NRR (60-90 Tage) erzielen als bei einer Auftautemperatur von +35°C und 13 Sekunden Auftauzeit. Die Ergebnisse ließen sich jedoch statistisch nicht absichern. Dagegen konnten ebenfalls bei mittleren Pailletten ALMQUIST et al. (1982) bei einer Auftautemperatur von +32°C bis +35°C mit einer Auftauzeit von 40 Sekunden ein signifikant besseres Ergebnis erzielen als mit einer Auftauzeit von 9 Sekunden. PACE et al. (1981) konnten desweiteren bei der gleichen Konfektionierungsart bei 90 Tage NR signifikant bessere Befruchtungsergebnisse mit dem Auftauen in 37°C warmem Wasser bei einer Auftauzeit von mindestens 30 Sekunden ermitteln als in 1°C oder 20°C warmem Wasser bei einer Auftauzeit von 60 Sekunden. Die höheren NR-Ergebnisse bei +37°C konnten bei +1°C und +20°C nicht durch eine Erhöhung der Anzahl lebender SpD erreicht werden. Die Kriterien Vorwärtsbeweglichkeit nach dem Auftauen, intaktes Akrosom, Akrosin-Aktivität, GOT-Aktivität und die Fähigkeit der Spermien, einen Sephadex-Filter zu passieren, verhielten sich bei +37°C signifikant besser als bei den beiden niedrigeren Auftautemperaturen.

Ebenso war bei PAPA (1982) in seinen Laboruntersuchungen bei Minitübs die höhere Auftautemperatur der niedrigeren überlegen. Er prüfte den Einfluß der Auftautemperatur +40°C und +70°C und unterschiedlicher Auftauzeiten von 10 und 30 Sekunden bzw. 10 und 15 Sekunden auf die spermatologischen Parameter Akrosomintegrität und Motilität. Das schnellere Auftauen bei +70°C erbrachte signifikant höhere Prozentsätze für den

Anteil motiler und akrosomintakter Samenzellen im Vergleich zum Auftauverfahren bei +40°C. Durch Verlängerung der Auftauzeit konnten hingegen keine signifikanten Veränderungen der Spermienparameter festgestellt werden. Durch einen Besamungsversuch konnte weiterhin gefolgert werden, daß eine Verbesserung der Spermaqualität durch Optimierung des Auftauverfahrens eine wenn auch zahlenmäßig geringe doch statistisch signifikante Verbesserung der Befruchtungsergebnisse verursachen kann.

2.5. Spermaqualität und ihre Beziehung zum Befruchtungsvermögen

Die Samenqualität läßt sich in Lebensfähigkeit und Morphologie der Spermien unterteilen (SAACKE 1984). Die Lebensfähigkeit der Spermien ist charakterisiert durch die Motilität, d. h. die Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien und ihre Geschwindigkeit, durch die Penetration von Zervikalschleim, die metabolische Aktivität, den Zellgehalt an DNA, Enzymen und Lipiden, die Integrität der Zellmembran und des Akrosoms, die Fähigkeit der Spermien durch einen Sephadex-glas-wool-Filter zu passieren und in Anwesenheit von Blutserum zu agglutinieren. Die Morphologie ist gekennzeichnet durch mikroskopisch feststellbare Defekte. BLOM (1972) unterschied hinsichtlich der Morphologie zwischen größeren und kleineren Defekten entsprechend ihrer Auswirkung auf die Fertilität. SAACKE und WHITE (1972) dagegen sprechen von primären, sekundären und tertiären Mißbildungen in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation am Spermium. Die primären Mißbildungen stehen für Verformungen und Schädigungen an Kopf und Akrosom, die sekundären für Protoplasmatröpfchen, die tertiären für abnorme Schwanzformen. In ihren Untersuchungen konnten die Autoren nachweisen, daß entsprechend der Wertung dieser Mißbildungen eine Korrelation zur Fertilität besteht.

UWLAND (1984b) gliedert die Spermienqualität in drei Kategorien ein:

1. Motilität und Lebensfähigkeit
2. Morphologie
3. biochemische Reaktionen

Arbeiten zu diesen drei Kriterien wurden auch von LEIDL (1980) durchgeführt. Mittels Laser-Doppler-Spektroskopie konnte er die Messung der Spermienmotilität durch die Erfassung der mittleren Geschwindigkeit der Spermien, des Anteiles vorwärtsbeweglicher Spermien und deren Verhältnis zur Anzahl ortsbeweglicher Spermien objektivieren. Hinsichtlich der Morphologie wurde die Bedeutung freier Protoplasmatröpfchen untersucht. Ein Zusatz freier Protoplasmatröpfchen zu gewaschenen Spermien intensivierte in vitro Motilität und Milchsäureproduktion. Ferner zeigte der mittels Biolumineszenz nachgewiesene ATP-Gehalt der Spermien eine positive Korrelation zu ihrer Motilität. Ebenso wurde bei Bullensperma eine gute Wechselbeziehung zum Fruktolyseindex und der "Lebend-tot-Färbung" erhalten.

BISHOP et al. (1954) wiesen in ihren Arbeiten darauf hin, daß die Anzahl lebender Spermien und deren Vorwärtsbeweglichkeit enger mit der Fertilität korreliert sind als die metabolische Aktivität, wie sie in der Methylenblau-Reduktionsprobe oder dem Fruktolyseindex zum Ausdruck kommt. Darüber hinaus wirkt sich der Anteil toter Spermien in einem Ejakulat negativ auf die Fertilität aus.

Mittels der Biolumineszenz untersuchte BERGER (1983) die Adenosinucleotidgehalte der Spermien und ihre Beziehung zum Befruchtungsvermögen. Als Vorhersage zur Fertilitätsrate zeigten sie sich jedoch ungeeignet. Dagegen erwies sich die Differenz der AEC (Adenylsäure-Energie-Ladung) vor dem Tiefgefrieren und nach dem Auftauen als hierfür am besten geeignet.

Nach VAN DUIJN jun. (1971) wird das potentielle Befruchtungsvermögen eines männlichen Tieres primär von nachstehenden Eigenschaften bestimmt:

1. der Gesamtzahl der ejakulierten Spermatozoen
2. der mittleren Geschwindigkeit normal beweglicher Spermatozoen
3. dem Anteil der strukturell und funktionell normalen Spermatozoen
4. der Geschwindigkeit, mit der die Spermatozoen altern

Ein möglicher Einfluß der Spermengeschwindigkeit auf das Befruchtungsvermögen wurde von GSCHWEND (1986) mittels computergesteuerter und manueller Auswertung der Videomikrographie genauer überprüft. Bei einer

Gegenüberstellung von Ejakulaten mit höchsten und niedrigsten NR-Raten zeigte sich, daß der Prozentsatz der Spermien mit einer Geschwindigkeit über 70 $\mu\text{m}/\text{Sek.}$ in den "besseren" Ejakulaten durchschnittlich höher war als in den "schlechteren". Die durchschnittliche Geschwindigkeit aller Spermien war dagegen nicht mit der NRR korreliert. Darüberhinaus konnte für den Prozentsatz der vorwärtsbeweglichen Spermien eine signifikante Korrelation zur NRR der Ejakulate ermittelt werden.

Signifikante positive Korrelationen zwischen der Fertilität und der Spermienmotilität konnte UWLAND (1984b) aufzeigen. Aber trotz dieser positiven Korrelationen ergaben sich nur minimale Verbesserungen hinsichtlich des Befruchtungsvermögens insgesamt. Die Selektion der Bullen, basierend auf ihrer durchschnittlichen Samenqualität und ihren ersten NR-Ergebnissen, zeigte dagegen eine weit effektivere Verbesserung der Gesamt-Fruchtbarkeit.

COUROT et al. (1965) konnten bei Frischsperma nachweisen, daß Samendosen mit sehr guter Motilität und 20×10^6 Gesamt-SpD nahezu die gleichen NR-Ergebnisse (71,4 % bei 60-90 Tage NR) wie Samendosen mit mittlerer Motilität und 30×10^6 Gesamt-SpD (70,1 % bei 60-90 Tage NR) aufwiesen. Samendosen mit 20×10^6 Gesamt-Spermien und mittlerer Motilität zeigten hingegen niedrigere NR-Ergebnisse.

Der Einfluß der Spermaqualität auf die Fertilität wurden auch von WOOD et al. (1986) mittels einiger Labortests bei Hereford-Bullen untersucht. Dabei zeigte sich, daß eine Kombination aus der Schätzung der Vorwärtsbeweglichkeit nach Verdünnung von 1 : 19 mit 0,85 %iger Kochsalzlösung, der Schätzung der Vorwärtsbeweglichkeit nach dem Auftauen, dem Anteil an Krümmlingen und dem Anteil an Spermien mit proximalen Protoplasmatröpfchen die beste Vorhersage zum Befruchtungsvermögen ergibt ($r = 0.66$).

Dagegen konnten LINFORD et al. (1976), obwohl sie positive Korrelationen zwischen zahlreichen Laboruntersuchungen und der NRR (112 Tagen) fanden, keine positiven Regressionen nachweisen und dokumentierten damit die geringe Aussagekraft von Labortests bezüglich einer Vorhersage auf die NR-Ergebnisse. Ebenso fanden KRAUSE (1966) und PACE (1980) beim Ver-

gleich mehrerer Untersuchungen zur Samenqualität keine Methode, die eine genaue Vorhersage des Befruchtungsvermögens erlaubt.

ZIEGLER (1984) folgerte bei einem Vergleich zwischen Sperma- und Fruchtbarkeitsmerkmalen, daß mit Hilfe der derzeit üblichen Spermauntersuchungsmethoden es nicht gelingt, durch die Selektion des Spermas Unterschiede in der männlichen Fruchtbarkeit von Bullen und Ejakulaten aufzuheben. Auf die Schätzung des Zuchtwertes für die männliche Fruchtbarkeit, ausgedrückt als NRR, kann somit nicht verzichtet werden.

2.6. Untersuchungen über Mindestanforderungen hinsichtlich der Anzahl der Spermien pro Samendosis bei verschiedenen Konfektionierungen

Die im Verlauf der letzten 25 Jahre angestellten Untersuchungen beim Tiefgefrier-Sperma befassen sich namentlich mit in Glasampullen oder in französischen Pailletten abgefüllten Samen, worüber SCHMIDT und MUDRA (1974), PICKETT und BERNDTSON (1978), PICKETT et al. (1978) und PACE (1980) zusammenfassend berichtet haben. Spärlicher sind Mitteilungen bei Minitübs (MARRE und ROMANOWSKI 1980) und Pellets (SCHMIDT und MUDRA 1971 und 1974, GOOSENS und VAN DEN BERG 1980, PILZ et al. 1982). Obwohl die Differenzen zwischen den erzielten Befruchtungsergebnissen bei unterschiedlichen Spermienanzahlen pro Besamungsdosis oft statistisch nicht gesichert sind, bringen höhere Spermienanzahlen in der Regel - aber nicht immer - bessere Resultate (PICKETT und BERNDTSON 1978). Die minimale Spermindosis dürfte von Besamungsstation zu Besamungsstation etwas unterschiedlich sein und müßte den jeweiligen Gegebenheiten angepaßt werden (KUPFERSCHMIED und SCHWAB 1986), so sollte jede Besamungsstation unter ihren eigenen Bedingungen der Verarbeitung und des Tiefgefrierens die optimale Anzahl der SpD bestimmen (SULLIVAN 1970).

2.6.1. Ampullen

beim Vergleich von Samendosen mit unterschiedlicher Spermienanzahl konnten von mehreren Autoren deutliche Unterschiede in den Befruchtungsergebnissen nachgewiesen werden (DUNN et al. 1953, ERICKSON und GRAHAM 1959, GOFFAUX und TOURNEUR 1965, SULLIVAN und ELLIOTT 1968, ALMQUIST 1975). Einbußen in den Befruchtungsraten stellten sich bei ihnen, legt man die Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen zugrunde, unterhalb von 10 bis 15×10^6 vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen ein. ARNOTT (1961) hingegen hielt eine Samendosis zu 20×10^6 Gesamt-Spermien für ausreichend.

In etlichen Untersuchungen wurden diese Ergebnisse jedoch nicht bestätigt (EMMENS und MARTIN 1961, PICKETT et al. 1964, HAFS et al. 1970, FOOTE 1970b). Obwohl die Autoren Samendosen mit weniger als 10×10^6 vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen verglichen, ließen sich die Unterschiede statistisch nicht absichern.

Auch HAHN (1966) konnte keine signifikanten Unterschiede zwischen 12.5, 17.5, 22.5 ... 72.5×10^6 motilen SpD nach dem Auftauen feststellen und folgerte, daß für eine optimale Befruchtung im Routinebetrieb 15×10^6 motile SpD nach dem Auftauen ausreichend wären.

FOOTE (1970b) koppelte in seinen Untersuchungen die Frage nach der Minimalanzahl an SpD mit der Frage nach verschiedenen Verdünnermedien, ihrem pH-Wert und der Glycerinkonzentration. Er verglich drei Verdünnungsstufen zu 12, 16 und 24×10^6 motilen SpD vor dem Tiefgefrieren. Die Anzahl der motilen SpD nach dem Auftauen bewegte sich zwischen 3 und 23×10^6 . Dabei zeigte die unterschiedliche Anzahl an motilen SpD eine geringere Auswirkung auf die Befruchtungsergebnisse als der Einfluß des Bullen. So beeinflusste die Spermienanzahl die Variationsbreite der NRR nur um 3 bis 18 %. Die NR-Ergebnisse (60-90 Tage) der Verdünnungsstufen unterschieden sich nicht signifikant.

2.6.2. Pellets

SCHMIDT und MUDRA (1971) verglichen Pellets zu 40, 30 und 20×10^6 Gesamt-SpD, daraus resultierten nach dem Auftauen 18.6, 14.5 und 9.8×10^6 vorwärtsbewegliche SpD. Die 90 Tage NR-Ergebnisse bei den drei Verdünnungsstufen in fallender Reihenfolge lagen bei 63,4, 65,0 und 64,2 %. Die Differenzen waren nicht signifikant.

In einer weiteren Untersuchung (SCHMIDT und MUDRA 1974) wurden dann die Verdünnungsstufen zu 30, 20 und 10×10^6 Gesamt-SpD untersucht, nach dem Auftauen resultierten entsprechend 13.9, 9.0 und 4.1 vorwärtsbewegliche SpD. Die 90 Tage NR-Ergebnisse lagen analog der oben genannten Reihenfolge der SpD bei 65,1 %, 63,7 % und 59,1 %. Die Verdünnungsstufen 30 und 20×10^6 unterschieden sich nicht signifikant, jedoch war der Unterschied zur Verdünnungsstufe mit 10×10^6 Gesamt-SpD hochsignifikant.

Dies konnte auch von GOOSENS und VAN DEN BERG (1980) belegt werden, die die Befruchtungslage bei 10 und 30×10^6 Gesamt-SpD verglichen, wobei letztere Konzentration hoch signifikant besser abschnitt. Bei Ejakulaten mit sehr guter Spermienqualität konnten hingegen diese Unterschiede in den Verdünnungsstufen nicht ermittelt werden.

PILZ et al. (1982) wiesen in einem Versuch mit 18.403 EB nach, daß bei einem Vergleich dreier Konzentrationen an Gesamt-SpD zu 20 bis 30, 38 bis 40 und 50 bis 58×10^6 sich keine signifikanten Unterschiede in der Trächtigkeitsrate einstellten. Bei 38 bis 40×10^6 Spermien pro Pellet erzielten sie eine etwas höhere Trächtigkeitsrate als bei den beiden Vergleichskonzentrationen.

2.6.3. Minitübs

In einem Split-Sample-Versuch ermittelten MARRE und ROMANOWSKI (1980) für Samendosen zu 20×10^6 und 30×10^6 Gesamt-Spermien eine Differenz in den NR-Ergebnissen von 1,93 % zugunsten der 30×10^6 Gesamt-SpD. Zu einem späteren Zeitpunkt wurde dann ein weiterer Versuch angestellt. Dieses Mal arbeiteten die Autoren nicht mit geteilten Ejakulaten, sondern verdünnten alternierend jeweils das vollständige Ejakulat auf 20×10^6 bzw. 30×10^6 SpD. Das NR-Ergebnis der mit 30×10^6 SpD durchgeführten Erstbesamungen lag mit 66,45 % um 0,38 % höher als bei den mit 20×10^6 SpD durchgeführten Erstbesamungen. Bei Bullen mit unbefriedigender Spermaqualität war der Unterschied zugunsten der 30×10^6 SpD am größten.

2.6.4. Pailletten

Die Angaben über die Spermienanzahl der Samendosen sind in der Literatur unterschiedlich wiedergegeben. So beziehen sich die Autoren in ihren Untersuchungen auf die Anzahl der Gesamt-Spermien, der motilen Spermien vor dem Tiefgefrieren und der motilen Spermien nach dem Auftauen.

Beträgt der Anteil der vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen durchschnittlich 50 % bei dem verwendeten Tiefgefriersamen, so kristallisiert sich in etlichen Arbeiten ein quantitativer spermatologischer Grenzbereich heraus, der zwischen 3 und 8×10^6 vorwärtsbeweglichen Spermien liegen dürfte. Wurde dieser Grenzbereich beim Vergleich verschiedener Verdünnungsstufen berührt oder unterschritten, stellten sich statistisch abgesicherte Unterschiede ein (BEAN 1972, LINFORD et al. 1977, FOULKES et al. 1977, FLORIN 1977, UWLAND 1984a, KUPFERSCHMIED und SCHWAB 1986).

FLORIN (1977) konnte deutliche Unterschiede in der NRR (60-90 Tage) zwischen 25 und 16×10^6 Gesamt-SpD einerseits und 12 und 6×10^6 Gesamt-SpD andererseits nachweisen. Die Verdünnungsstufen zu 25 und 16×10^6 unterschieden sich nicht deutlich. Der Autor folgerte, daß man unterhalb von 16×10^6 Gesamt-SpD mit einer Einbuße in den Befruch-

tungsergebnissen rechnen müsse. Letzteres wurde von UWLAND (1984a) bestätigt. Dieser erzielte mit 15×10^6 Gesamt-SpD bei dem verwendeten Bullenmaterial (5 Bullen mit gutem, 24 Bullen mit mittlerem und 5 Bullen mit schlechtem Befruchtungsvermögen) optimale NR-Ergebnisse, die sich statistisch absichern ließen. Eine höhere Spermienanzahl pro Insemination erbrachte dabei keine weitere Steigerung der Konzeptionsrate. Die notwendige Anzahl an Gesamt-SpD war abhängig vom Befruchtungsvermögen des Bullen.

In einigen Untersuchungen ließen sich die Unterschiede der Befruchtungsergebnisse bei verschiedenen Verdünnungsstufen statistisch nicht absichern, obwohl jener quantitative spermatologische Grenzbereich berührt oder auch unterschritten wurde (JONDET 1968, STEWART und BENNETT 1968, KUPFERSCHMIED et al. 1981, PHILIPSEN 1982, HAARD und HAARD 1984). Lediglich ein tendenzieller Anstieg der NRR mit steigender SpD konnte von KUPFERSCHMIED et al. (1981) und HAARD und HAARD (1984) belegt werden. Sie kamen weiter zu dem Schluß, daß 15×10^6 Gesamt-SpD für optimale Besamungsergebnisse genügen.

Angesichts dieser doch nicht eindeutigen Resultate entschlossen sich KUPFERSCHMIED und SCHWAB (1986), in einem Split-Sample-Versuch die 15 und 20×10^6 Gesamt-SpD nochmals zu vergleichen. Für die 20×10^6 Gesamt-SpD konnte nun sowohl bei Kühen als auch bei Kalbinnen signifikant bessere Befruchtungsergebnisse belegt werden. Man folgerte darüber hinaus, daß zur Erzielung optimaler Besamungsergebnisse die SpD nicht unkritisch reduziert werden darf.

2.7. Einfluß des Bullen auf die Fertilität und auf die Minimierung der Anzahl der SpD

Zahlreiche Arbeiten weisen den Einfluß des Bullen auf die Befruchtungsrate nach. Bei einem Vergleich der NRR von Bullen mit unterschiedlichem Befruchtungsvermögen fanden MACMILLAN und WATSON (1975), daß gute Befruchter weit weniger vom Zeitpunkt im Östrus beeinflusst wurden als Bullen mit mäßigem Befruchtungsvermögen.

Ähnliches beobachtete man bei der Minimierung der Anzahl der SpD. So macht sich eine Reduzierung der SpD bei Bullen mit gutem Befruchtungsvermögen weit weniger bemerkbar als bei Bullen mit schlechtem Befruchtungsvermögen (SULLIVAN und ELLIOTT 1968, HAFS et al. 1970, MARRE und ROMANOWSKI 1980, UWLAND 1984a).

In dem Bestreben, die Anzahl der SpD zu minimieren, ermittelte UWLAND (1984a) für Bullen mit gutem Befruchtungsvermögen einen Grenzwert von 7.5×10^6 SpD. Eine Steigerung der Gesamt-SpD erbrachte dabei keine weitere Verbesserung der NRR. Für Bullen mit mittlerem Befruchtungsvermögen lag die Anzahl der SpD bei 10×10^6 , für Bullen mit schlechtem Befruchtungsvermögen bei 15×10^6 . Auch in diesen Fällen ergab sich bei einer Steigerung der Spermienzahl keine weitere Verbesserung der NRR.

SULLIVAN und ELLIOTT (1968) konnten bei den einzelnen Befruchtergruppen hinsichtlich der verschiedenen Konzentrationsstufen signifikant unterschiedliche NR-Ergebnisse ermitteln. Die Unterschiede zwischen den Bullengruppen waren ebenfalls signifikant.

Bei der Betrachtung des Unterschieds im Besamungserfolg der einzelnen Bullen konnten MARRE und ROMANOWSKI (1980) bestätigen, daß bei Bullen mit unbefriedigender Spermaqualität eine Steigerung der Befruchtungsrate sich stets bei der höheren Anzahl an SpD ergab.

ALMQUIST (1975), FLORIN (1977) und KUPFERSCHMIED und SCHWAB (1986) fanden hingegen keine Interaktion Bulle x SpD.

SCHMIDT und MUDRA (1974) wiesen bei Bullen mit schlechtem Befruchtungsvermögen mit sinkender SpD sogar einen geringen Anstieg der NRR nach.

FOOTE (1970b) belegte, daß die NRR der Bullen mit schlechtem Befruchtungsvermögen durch eine Erhöhung der SpD nur unwesentlich gesteigert werden kann. Entsprechend ist die genetische Varianz der männlichen Fruchtbarkeit relativ klein. Nur durch einen hohen Selektionsdruck über entsprechende Auswahlmethoden kann die genetische männliche Fruchtbarkeit verbessert werden (FOOTE 1970a).

Die Auslese von 30 % der Besamungsbullen auf der Grundlage ihrer durchschnittlichen Samenqualität hätte nach UWLAND (1984b) dieselbe Auswirkung wie das Verwerfen von 50 % der gewonnenen Ejakulate. Ähnliches berichten OLTENACU et al. (1980) beim Vergleich zweier Ausscheidungsmethoden von Ejakulaten. Hierbei wurde die Selektion der Ejakulate innerhalb des Bullen der Selektion von Bullen anhand einer festgesetzten NRR gegenübergestellt. Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, daß das Ausscheiden von Bullen einfacher und billiger ist als das Testen und Verwerfen der Ejakulate innerhalb der Bullen, vorausgesetzt das Befruchtungsvermögen des Bullen ist bekannt und ändert sich nicht wesentlich in seiner Vorhersage. Letztendlich ist aber eine Kombination aus Selektion nach Bullen und nach Ejakulat anzustreben.

Tab. 1: Besamungsergebnisse unterschiedlicher Spermienanzahlen pro Besamungsdosen bei Tiefgefrier-Sperma.
Chronologische Zusammenfassung von Literaturangaben.
Konfektionierungsart: Ampullen

Abpackung	Erstbesamungen (n)	Anzahl der Spermien/ Dosis ($\times 10^6$)	Besamungsergebnis (%)	Differenz	Autoren
1 ml	587	5 Gesamt-Spermien 12 30	81 NRR 28-35 Tage 72 86	NRR 28-35 Tage n. sign. NRR 60-90 Tage sign. zw. 5,12 & 30	DUNN et al. 1953
1 ml	469 479 472	10 motile Spermien 20 vor dem TG 30	63.1 NRR 68.9 75 Tage 72.7	sign. P < 0.01 zw. 10 & 30 SpD	ERICKSON und GRAHAM 1959
1 ml	490 490 489	13.3 Gesamt-Spermien 20 30	61.0 NRR 63.3 90 Tage 61.5	n. sign.	EMMENS und MARTIN 1961
1 ml	5607 5638	20 vorwärtsbewegl. Spermien vor dem TG	71.7 NRR 72.2 60-90 Tage	n. sign.	PICKETT et al. 1964
1 ml	870 870 870	24 motile Spermien 31 vor dem TG 40	61.5 NRR 62.9 90-120 Tage 66.5	sign. P < 0.05 zw. 24 & 40 SpD	GOFFAUX und TOURNEUR 1965
1 ml	2283 1400 1299 965 649 1013 1021 1299 838	12.5 lebende Spermien 17.5 nach dem Auf- tauen 22.5 27.5 32.5 37.5 42.5 47.5 52.5	70 NRR 65 72 73 75 63 74 75 70	n. sign.	HAHN 1966

1	ml	564 638 242 583	57.5 62.5 67.5 72.5	5 10 15	vorwärtsbewegl. Spermien nach dem Auftauen	73.3 76.2 76.3	NRR 60-90 Tage	sign. P 0.01 zw. 5 & 10,15 v-SpD-A	SULLIVAN und ELLIOTT 1968
0,5	ml	11119		12 24 35	Gesamt-Spermien	68.1 73.7 70.6	NRR 60-90 Tage	n. sign.	HAFS et al. 1970
0,9	ml	7937		12 24 35	Gesamt-Spermien	73.4 70.0 75.8	NRR 60-90 Tage	n. sign.	
1	ml	1977 1970		16 24	motile Spermien vor dem TG	73.6 74.6	NRR 60-90 Tage	n. sign.	FOOTE 1970b
1	ml	4628 4102		12 24	motile Spermien vor dem TG	71.1 72.2	NRR 60-90 Tage	n. sign.	
1	ml	1576 1488 1539		10 15 20	motile Spermien vor dem TG	61.1 61.5 69.5	NRR 60-90 Tage	sign. P 0.01 zw. 10,15 & 20 v-SpD	ALMQUIST 1975

NRR = Non-Return-Rate

SpD = Spermien pro Dosis ($\times 10^6$)

v-SpD-A = vorwärtsbewegliche Spermien nach dem Auftauen pro Dosis ($\times 10^6$)

v-SpD = vorwärtsbewegliche Spermien pro Dosis ($\times 10^6$)

TG = Tiefgefrieren in flüssigem Stickstoff

Tab. 2: Besamungsergebnisse unterschiedlicher Spermienanzahlen pro Besamungsdosen bei Tiefgefrier-Sperma.
Chronologische Zusammenfassung von Literaturangaben.
Konfektionierungsart: Palletten

Abpackung	Erstbesamungen (n)	Anzahl der Spermien/ Dosis ($\times 10^6$)	Besamungsergebnis (%)	Differenz	Autoren
0,20 ml	722	3.25 motile Spermien	67.27 NRR	n. sign.	JONDET 1968
	684	6.5 nach dem Auftauen	67.1 60-90 Tage		
	1045	13	66.20		
0,10 ml	602	3.25 motile Spermien	58.26 NRR	n. sign.	
	591	6.5 nach dem Auftauen	63.79 60-90 Tage		
	575	13	60.79		
0,5 ml	557	10 Gesamt-Spermien	79.5 NRR	n. sign.	STEWART und BENNETT 1968
	527	20	78.6 28 Tage		
	565	30	78.6		
0,5 ml	550	5 Gesamt-Spermien	76.5 NRR	n. sign.	
	533	10	74.5 28 Tage		
	532	20	77.3		
?	2548	8 motile Spermien	69.7 NRR	sign. P 0.05	BEAN 1972
	2551	12 vor dem TG	73.3 60-90 Tage		
0,25 ml	4588	5 Gesamt-Spermien	57.7 NRR	sign. P 0.05 zw. 5 & 10, 15, 20 SpD	LINFORD et al. 1977
		10	63.3 112 Tage		
		15	60.9		
		20	63.6		
0,25 ml	8960	5 Gesamt-Spermien	59.1 NRR	sign. P 0.05 zw. 5,7,9 u. 12 SpD P 0.001 zw. 5,7,9 u. 20 SpD	FOULKES et al. 1977
		7	61.3 112 Tage		
		9	60.7		
		12	64.1		
		20	66.7		
0,23 ml	2027	6 Gesamt-Spermien	53.72 NRR	sign. P 0.05 zw. 6,12 & 16, 25 SpD	FLORIN 1977
	2382	12	59.82 90 Tage		
	2295	16	64.22		
	2510	25	65.57		

0,25 ml	1302* 1366* 1677*	15 20 25	Gesamt-Spermien	70.74 71.89 71.97	NRR 75 Tage	n. sign.	KUPFERSCHMIED et al. 1981
0,25 ml	2463° 2492° 3066°	15 20 25	Gesamt-Spermien	67.72 68.38 69.47	NRR 75 Tage	n. sign.	
?	27461 26964	20 30	Gesamt-Spermien	69.3. 69.7	NRR 30-60 Tage	61.0 NRR 61.4 60-90 Tage	PHILIPSEN 1982
0,25 ml	1335 1310 1968 1812 2046 2030 1785 1888	3.75 5 7.5 10 15 20 30 40	Gesamt-Spermien	67.2 68.8 70.6 72.2 73.0 72.5 72.9 72.6	NRR 56 Tage	sign. P 0.05 zw. 3.75 u. 10 SpD P 0.001 zw. Bullen mit gutem u. schlechtem Befruchtungsvermögen	UWLAND 1984a
0,25 ml	13114 12986	15 20	Gesamt-Spermien	65.43 65.07	NRR 56 Tage	n. sign.	HAARD und HAARD 1984
0,25 ml	2763* 2590*	15 20	Gesamt-Spermien	67.76 70.72	NRR 75 Tage	sign. P 0.05	KUPFERSCHMIED und SCHWAB 1986
0,25 ml	5488° 4922°	15 20	Gesamt-Spermien	63.46 66.14	NRR 75 Tage	sign. P 0.01	

NRR = Non-Return-Rate

SpD = Spermien pro Dosis ($\times 10^6$)

* = bei Rindern

° = bei Kühen

TG = Tiefgefrieren in flüssigem Stickstoff

Tab. 3: Besamungsergebnisse unterschiedlicher Spermienanzahlen pro Besamungsdosen bei Tiefgefrier-Sperma.
Chronologische Zusammenfassung von Literaturabgaben.
Konfektionierungsart: Pellets

Abpackung	Erstbesamungen (n)	Anzahl der Spermien/ Dosis (x 10 ⁶)	Besamungsergebnis (%)	Differenz	Autoren
0,1 ml	2118 2163 2148	9,8 vorwärtsbewegl. 14,5 Spermien nach 18,6 dem Auftauen	64.2 NRR 65.0 90 Tage 63.4	n. sign.	SCHMIDT und MUDRA 1971
0,1 ml	3687 3838 3921	4.1 vorwärtsbewegl. 9.0 Spermien nach 13.9 dem Auftauen	59.1 NRR 63.7 90 Tage 65.1	n. sign.	SCHMIDT und MUDRA 1974
0,1 ml	2964 1190	10* Gesamt-Spermien 30*	77.26 NRR 79.58 28 Tage	65.18 NRR 69.08 56 Tage	GOOSENS und VAN DEN BERG 1980
0,1 ml	2315 4170	10° Gesamt-Spermien 30°	78.06 NRR 80.91 28 Tage	68.47 NRR 70.34 56 Tage	n. sign.
?	6127 7059 5217	20-30 Gesamt-Spermien 38-40 50-58	53.7 TR % 54.7 53.5	n. sign.	PILZ et al. 1982

NRR = Non-Return-Rate

TR = Trächtigkeitsrate

* = Ejakulate mit guter Motilität

° = Ejakulate mit sehr guter Motilität

Tab. 4: Besamungsergebnisse unterschiedlicher Spermienanzahlen pro Besamungsdosen bei Tiefgefrier-Sperma.
Konfektionierungsart: Minitübs

Abpackung	Erstbesamungen (n)	Anzahl der Spermien/ Dosis (x 10 ⁶)	Besamungsergebnis (%)	Differenz	Autoren
0,4 ml	2292	20	69.11 NRR	n. sign.	MARRE und ROMANOWSKI 1980
	2238	30	71.04 30-60 Tage		
	25795	20	65.78 NRR	n. sign.	
	15158	30	66.16 30-60 Tage		
NRR = Non-Return-Rate					

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Bullen

Für die Untersuchungen wurden 9 im Zuchtwert positiv geschätzte Altbullen der Rasse "Deutsches Fleckvieh" des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e. V. im Alter von 6 bis 11 Jahren ausgewählt.

Entsprechend ihrer Zuchtwerte-Fruchtbarkeit für NR 90 Tage und ihrer Rang-Nummer (NR 90 Tage) in Bayern wurden die Bullen in drei Gruppen eingeteilt, und zwar zu je 3 Bullen mit gutem, mittlerem und schlechtem Befruchtungsvermögen. Der Berechnung der Abweichungen lag für 1985 ein Stationsdurchschnitt von 59,8 % NR 90 Tage zugrunde (Tab. 5).

Tab. 5: Zuchtwert und Rang-Nummer (NR 90 Tage) der für den Versuch ausgewählten Bullen sowie ihre Einteilung in Befruchtungsgruppen

Befruchter	Bulle	Geb.-Jahr	Zuchtwert NR 90 Tage	Rang-Nr. NR 90 Tage
gute	1	1975	+4.2	4
	2	1979	+3.2	13
	3	1977	+2.4	29
	$\bar{x}$	$\pm s$	+3.3	± 0.7
mittlere	4	1978	+0.5	97
	5	1980	+0.4	109
	6	1980	-0.1	134
	$\bar{x}$	$\pm s$	+0.3	± 0.3
schlechte	7	1978	-1.7	188
	8	1977	-2.3	198
	9	1978	-4.2	218
	$\bar{x}$	$\pm s$	-2.7	± 1.1

Das Verfahren, die Fruchtbarkeit der Bullen in ihren Zuchtwerten-Fruchtbarkeit NR 90 Tage anzugeben, ist seit 01.01.1986 in die Verordnung über den Vollzug des Tierzuchtrechts (Tierzuchtverordnung) in der Fassung der Bekanntmachung vom 20. Mai 1980 aufgenommen worden. Der Zuchtwert (ZW) stellt die Abweichung zum Stationsdurchschnitt NR 90 Tage dar. Die Klassifizierung erfolgt nach 0,5 Standardabweichungen.

Bei der ZW-Schätzung Fruchtbarkeit werden innerhalb einer Station der Rasse des Kuhvaters und der des Bullen folgende Einflußfaktoren mitberücksichtigt:

- Herde
- Region - Jahr - Saison - Herdenklasse
- Laktation
- Erstbesamungsalter/Rastzeit innerhalb Laktation
- Inseminator
- Vater (innerhalb Laktation)
- Bulle (innerhalb Laktation)

3.2. Samenproduktion

3.2.1. Samengewinnung

Für den Versuch wurden 8 Ejakulate pro Bulle gewonnen. Die Gewinnung erfolgte mit Hilfe der künstlichen Scheide. Als Deckpartner dienten Standbullen. Das Sperma wurde in einem doppelwandigen Tulpenglas, Modell Neustadt a. d. Aisch (EIBL 1959), aufgefangen, zwischen dessen Wänden +37°C warmes Wasser eingefüllt worden war, um einem Kälteschock vorzubeugen. Zeigte sich bei den mikroskopischen Voruntersuchungen, daß neben den von der Besamungsstation erhobenen Mindestanforderungen für ein Ejakulat die für den Versuch zusätzlich aufgestellten Mindestanforderungen (hierzu siehe 3.2.2.2.) nicht erfüllt waren, wurde frühestens nach 15 Minuten und spätestens nach einer Stunde ein zweites Ejakulat gewonnen. Anschließend wurde eine Deckpause von 7 Tagen eingehalten, während nach einem Einfachsprung eine Deckpause von 2 Tagen innerhalb der Woche bzw. 5 Tagen, wenn das Wochenende dazwischen lag, eingehalten wurde. Die Gewinnung der Ejakulate erstreckte sich auf den Zeitraum vom 10.09.1986 bis 13.10.1986.

3.2.2. Untersuchung und Konfektionierung des Ejakulates

Von jedem Nativejakulat (E) wurden die Menge, Farbe, mikroskopisch die Massenbewegung, der prozentuale Anteil an vorwärtsbeweglichen Spermien (V %) und pathologischen Formen festgehalten; die Konzentration der Spermien/ μ l (K) wurde mittels eines elektronischen Partikelzählgerätes bestimmt. Darüber hinaus wurden von jedem gewonnenen Ejakulat drei Verdünnungsstufen angelegt, die so berechnet werden sollten, daß nach dem Auftauen 5, 10 und 20×10^6 vorwärtsbewegliche Spermien pro Samendosis enthalten waren.

Zum besseren Verständnis der weiteren Erläuterungen erfolgt die Angabe der Konzentration der Spermien nicht je μ l, sondern je ml.

Zur Konfektionierung wurde die mittlere Paillette (Paillettes Moyennes) der Firma I.M.V., B.P. 76, 61300 L'AIGLE (Frankreich), mit einem Durchmesser von 2,8 mm, einem Volumen von 0,54 ml und einer Länge von 133 mm verwendet. Bei der folgenden Berechnung wurde ein Dosisvolumen von 0,5 ml zugrundegelegt.

3.2.2.1. Berechnung des Verdünnungsgrades

$$Vg = \frac{K \times VA \%}{VS \times 100} \times 0,5$$

$$\text{oder } Vg = \frac{K \times V \% \times AR}{VS \times 100} \times 0,5$$

benötigte Verdünnermenge = $(Vg-1) \times E\text{-Volumen (ml)} =$
50 % VL I + 50 % VL II

Vg = Verdünnungsgrad

K = Konzentration (Anzahl der Spermien in $10^6/\text{ml}$)

VS = Verdünnungsstufe

VS 20 = 20×10^6 motile Spermien nach dem Auftauen/Dosis

VS 10 = 10×10^6 motile Spermien nach dem Auftauen/Dosis

VS 5 = 5×10^6 motile Spermien nach dem Auftauen/Dosis

VA % = Durchschnittswert der Vorwärtsbeweglichkeit nach dem Auftauen im Vorjahr (1985)

V % = Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat

Vv % = Durchschnittswert der Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat des Vorjahres (1985)

AR = Auftaurate an vorwärtsbeweglichen Spermien nach Tiefgefrieren bezogen auf den Bullen (B)

$$AR = \frac{VA \%}{Vv \%}$$

E = Ejakulat

VL = Verdünner (Eigelb-TRIS-Verdünner)

VL I = ohne Glycerin

VL II = mit Glycerin

Die Ermittlung der Auftaurate (AR) aus dem Vorjahr erfolgte durch Auswertung eines jeden 4. Ejakulates und Berechnung des Mittelwertes. Durch den Faktor AR wurde erwartet, daß die Vorhersage der möglichen Verluste durch das Tiefgefrieren und Auftauen kalkulierbarer und die Streuung innerhalb der einzelnen Verdünnungsstufen geringer werden würde.

Die Konzentration (10^6 Spermien/ml) der endverdünnten Ejakulate der einzelnen Versuchsbullen wurde durch folgenden Quotienten (Dichtefaktor) berechnet:

$$\frac{VS\ 20 \times 200}{V \% \times AR}$$

und entsprechend der erzielten Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat bereits vor der Versuchsdurchführung in einer Tabelle angegeben. Damit wurde eine wesentliche Vereinfachung der Berechnung des Verdünnungsgrades erzielt und der Arbeitsablauf im Labor nicht behindert.

Dividierte man die Konzentration der Spermien im endverdünnten Ejakulat durch die Konzentration der Spermien im betreffenden Nativejakulat, so erhielt man den Verdünnungsgrad. Von dem errechneten Verdünnungsgrad wurde 1 subtrahiert, das Produkt $(Vg-1) \times E$ -Volumen ergab dann die benötigte Verdünnermenge in ml (50 % VL I u. 50 % VL II).

3.2.2.2. Herstellung der VS 5, 10 und 20

Entsprachen die bei der makroskopischen und mikroskopischen Voruntersuchung geschätzten und gemessenen Werte den als Mindestanforderungen für Nativsamen vorgegebenen Normen, wurde das Ejakulat binnen 30 Min. auf +21°C abgekühlt und anschließend verdünnt und konfektioniert. Die Verdünnung und Konfektionierung erfolgte bei Raumtemperatur.

Die Mindestanforderungen betragen:

Vorwärtsbeweglichkeit 70 %, Volumen 2 ml und Dichte $0,6 \times 10^9$ Spermien/ml. Das Produkt Spermienkonzentration $\times$ Ejakulatsvolumen mußte jedoch zur Erstellung der drei Verdünnungsstufen (à ca. 100 Dosen) so groß sein, daß sich bei VA % = 50 ein Mindestgehalt von 7×10^9 Spermien/E ergab.

Das in 3.2.2.1. errechnete Verdünnervolumen wurde zu gleichen Teilen auf Verdünner I und II verteilt. Verdünner I, ein Eigelb-TRIS-Verdünner, wurde unfraktioniert zugegeben. Verdünner II enthielt zusätzlich 12 % Glycerin. Wegen der spermien-schädigenden Wirkung des Glycerins wurde er möglichst schonend, d. h. tropfenweise unter ständiger Rührbewegung, dem vorverdünnten Sperma beigemischt. Die Glycerinkonzentration in der Endverdünnung betrug somit 6 %.

Der Eigelb-TRIS-Verdünner hatte folgende Zusammensetzung:

- Trishydroxymethylaminomethan	24,22 g
- Zitronensäure	13,60 g
- Fruktose	10,00 g
- Eigelb	200,00 g
- Streptomycin	1,00 g
- Penicillin	1×10^6 IE
- aqua bidest	800,00 g

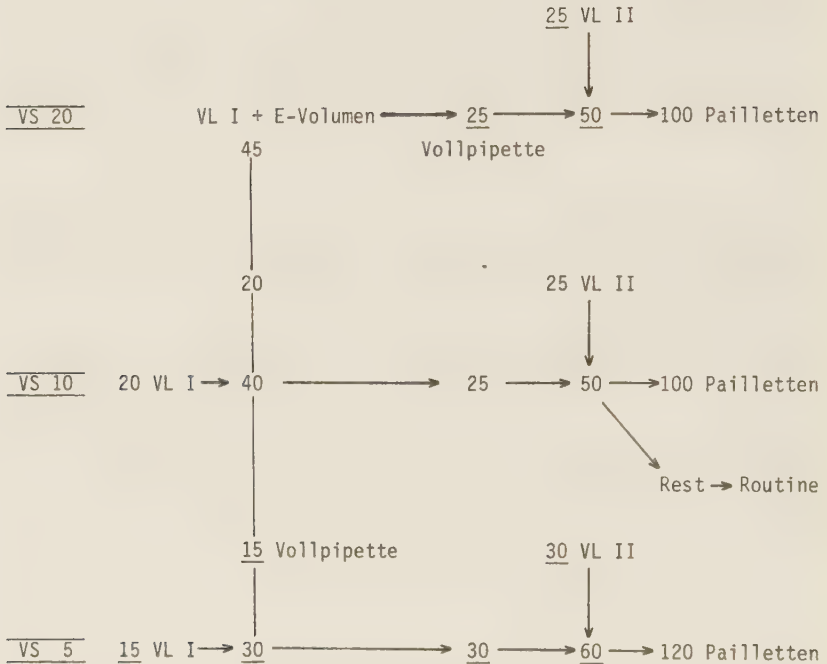
Mit einer automatischen Abfüll- und Verschließanlage (Füll- und Verschließmaschine MRS 3 der Firma I.M.V.) wurde das verdünnte Sperma in mittlere Pailletten (Paillettes Moyennes) abgefüllt.

Bei der Konfektionierung des Ejakulates stellte sich ein Verlust von ca. 5 % ein, so verblieben pro VS noch 95 Dosen, welche anschließend tiefgefroren wurden. 88 Samendosen pro VS und Ejakulat sollten dann zum Einsatz in der künstlichen Besamung kommen.

Für Vergleichsuntersuchungen wurden von den gefertigten Pailletten pro Ejakulat 9 (3 x 3) Portionen für die Computermessung, 6 (3 x 2) Portionen für die Schätzung nach dem Auftauen zurückbehalten. Als Verarbeitungsreserve verblieben 6 (3 x 2) Portionen.

Verdünnungsschema:

Die Werte im Verdünnungsschema geben die Mindestwerte (in ml) an. Die unterstrichenen Werte waren konstante, die nicht unterstrichenen variable Größen.



Verdünnungsvorgang:

Das Ejakulat wurde entsprechend des Verdünnungsgrades für VS 20 zunächst mit VL I verdünnt. Dieses vorverdünnte Ejakulat mußte mindestens 45 ml ergeben, um den weiteren Verdünnungsvorgang durchführen zu können.

Die VS 20-Charge erhielt man, indem man von eben dieser vorverdünnten Ejakulatsmenge 25 ml mit einer Vollpipette abpipettierte und zu diesen 25 ml nun weitere 25 ml VL II tropfenweise zugab. Die 50 ml wurden anschließend konfektioniert. Der Rest dieser vorverdünnten Ejakulatsmenge mußte mindestens 20 ml betragen. Dieser Rest (20 ml) wurde nun entsprechend seiner Menge mit der gleichen Menge VL I weiterverdünnt, es entstand die Vorverdünnung der VS 10. Von dieser nun erneut verdünnten Ejakulatsmenge wurden mit einer Vollpipette 15 ml zur Erstellung der VS 5-Charge abpipettiert.

Der Rest der Vorverdünnung der VS 10 wurde entsprechend seines Volumens mit dem gleichen Volumen an VL II tropfenweise zu VS 10 weiterverdünnt, anschließend erfolgte die Konfektionierung. 95 Pailletten wurden aus dieser VS für den Versuch abgezogen. Der Rest wurde in den Routinebetrieb eingeschleust, da es sich um wertvolles Bullensperma handelte und der Samen normalerweise in dieser Verdünnungsstufe konfektioniert wurde. Die 15 ml zur Erstellung der VS 5-Charge wurden weiterverdünnt mit 15 ml VL I. Zu diesen nun entstandenen 30 ml wurden weitere 30 ml VL II tropfenweise zugegeben. Die 60 ml der VS 5-Charge wurden im Anschluß konfektioniert.

Den Verdünnungsvorgang zusammenfassend kann festgestellt werden, daß zur Erstellung der VS 5 und VS 20 konstante Volumina abpipettiert wurden. Anders verhielt es sich mit VS 10. Hier waren die Mengen variabel, da für den Versuch überschüssiges Sperma dem Routinebetrieb zugeführt wurde. Die Zugabe an VL I erfolgte entsprechend dem jeweiligen Restvolumen, ebenso die an VL II.

3.2.2.3. Kennzeichnung der Pailletten

Ein Code (5-stellig) kennzeichnete jede Paillette; jede Samendosis trug somit eine Chiffre-Nummer.

Die erste Ziffer gab die Verdünnungsstufe wieder, die drei folgenden die fortlaufende Ejakulatsnummer. An letzter Stelle stand die Zahl 6 für das Jahr 1986.

3.2.3. Abkühlen und Adaptation

Zur anschließenden Abkühlung und Adaptation wurden die Pailletten auf Rampen gelegt. Um einen zu raschen Temperaturwechsel zu vermeiden, wurden diese in abgedeckten Schachteln in den Kühlraum mit einer Temperatur von +5°C verbracht. Die Schachteln hatten folgende Abmessungen: Länge 70 cm, Breite 16 cm, Höhe 15 cm, Pappdicke 0,1 cm. Nach 15 Minuten wurden die Schachteln abgedeckt. Die Adaptationszeiten für die am Vormittag gewonnenen Ejakulate lagen bei 7 bis 8 Stunden und für die am Nachmittag gewonnenen bei 15 bis 17 Stunden.

3.2.4. Tiefgefrieren und Wiederauftauen

Die Pailletten mit dem auf +5°C abgekühlten und adaptierten Sperma wurden zum Tiefgefrieren zunächst in den über der Oberfläche von flüssigem Stickstoff stehenden Dampf gehängt und nach ca. 10 Minuten in den flüssigen Stickstoff versenkt.

Nach einer vorgesehenen Einlagerungszeit von mindestens 8 Tagen wurden von jeder VS zwei Pailletten durch 15 Sekunden langes Eintauchen in ein Wasserbad von +38°C wieder aufgetaut und erneut eine Schätzung der Vorwärtsbeweglichkeit durchgeführt. Hierbei ergaben sich für die Verdünnungsstufen folgende Schätzungsbreiten:

- für VS 20 von 70 - 45 %
- für VS 10 von 65 - 40 %
- für VS 5 von 60 - 30 %.

Die Schätzwerte der VS 5 lagen somit bis zu 25 % unter denen der VS 10 und VS 20. VS 10 und VS 20 hingegen unterschieden sich nur minimal. Die Bullen 2 und 9, die im Vorjahr eine schlechte Auftaurate aufwiesen, ließen sich wider Erwarten relativ gut eingefrieren, so daß gerade bei ihnen eine Abweichung der Anzahl motiler Spermien nach dem Auftauen nach oben zu erwarten war.

In den einzelnen Verdünnungsstufen differierte die errechnete Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien/Dosis nach dem Auftauen zum Teil erheblich:

- bei VS 20 von 17 bis 32 ($\times 10^6$)
- bei VS 10 von 7 bis 14 ($\times 10^6$)
- bei VS 5 von 3 bis 7 ($\times 10^6$)

Trotz dieser Abweichungen werden nachfolgend die Verdünnungsstufen weiterhin mit 5, 10 und 20 $\times 10^6$ (VS 5, 10 und 20) bezeichnet.

Nach der Tiefgefrierung wurden die Pailletten entsprechend ihrer Verdünnungsstufe und des Ejakulates gesondert in flüssigem Stickstoff gelagert.

3.3. Einsatz der Ejakulate

Die Ejakulate wurden an 66 Besamungsbeauftragte des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e. V. in den Regierungsbezirken Oberpfalz, Ober- und Mittelfranken ausgegeben. Der Einsatz der Ejakulate fand vom 20.10.1986 bis 30.11.1986 statt. Es wurden 6 Gruppen zu je 11 Besamungsbeauftragten gebildet.

Vor dem Einsatz des Spermas war eine theoretische Einweisung der Besamungsbeauftragten in den Versuch durchgeführt worden. Dabei wurde unter anderem darauf hingewiesen, daß von allen Besamungsbeauftragten der Versuchssamen einheitlich nach folgenden Methoden behandelt werden mußte:

- ordnungsgemäße Aufbewahrung im Stickstoffcontainer
- Auftauen im Wasserbad bei $+35^{\circ}\text{C}$ für 25 Sekunden
- Verhütung jeglichen Kälteschocks
- sofortige Verwendung des Samens nach dem Auftauen.

Von jedem Ejakulat wurden drei Verdünnungsstufen hergestellt. Pro Verdünnungsstufe wurden 88 Samenportionen eingesetzt. Diese 3×88 Portionen pro Ejakulat wurden auf 11 Besamungsbeauftragte verteilt, die zu einer Gruppe zusammengefaßt waren. Jeder Besamungsbeauftragte erhielt 8 Portionen pro Verdünnungsstufe, davon war eine Portion als Reserve vor-

gesehen, insgesamt wurden also einem Besamungsbeauftragten pro Ejakulat 3 x 8 Portionen zugewiesen, bei 9 Bullen entsprechend 216 Portionen. Auf diese Weise wurden die ersten 6 Ejakulate der jeweiligen Gruppe ausgegeben.

Die Ausgabe der Samenportionen aus dem 7. und 8. Ejakulat erfolgte aus organisatorischen Gründen ca. 3 Wochen später. Diese gestaffelte Verteilung ermöglichte einen reibungslosen Einsatz des Versuchssamens, hatte den Vorteil einer zusätzlichen Betreuung der Besamungsbeauftragten und erlaubte eine mindestens 4-wöchige Tiefgefrierlagerung des Versuchssamens in flüssigem Stickstoff. Damit wurde entsprechenden Motilitätsänderungen innerhalb der ersten 4 Wochen Rechnung getragen (PICKETT et al. 1960).

Die Samendosen des 7. Ejakulates wurden hierbei der Gruppe I, die des 8. Ejakulates der Gruppe II zugewiesen. Jeder Besamungsbeauftragte aus diesen Gruppen erhielt also nochmals 216 Portionen.

Der Versuchssamen wurde in dem Zeitraum vom 21.10. 1986 bis 30.11.1986 eingesetzt.

3.4. Statistische Methoden

Die Auswertung der Untersuchungsergebnisse erfolgte mit Hilfe der EDV im Institut für Tierzucht und Tierhygiene. Für die Auswertung der NR-Ergebnisse wurde das Statistik-Programm-System für die Sozialwissenschaften (SPSS-X) verwendet. Im einzelnen wurde die Berechnung der Korrelationskoeffizienten, eine Varianzanalyse, eine Varianzkomponentenschätzung sowie eine χ^2 -Analyse durchgeführt (HARTUNG et al. 1986).

4. ERGEBNISSE

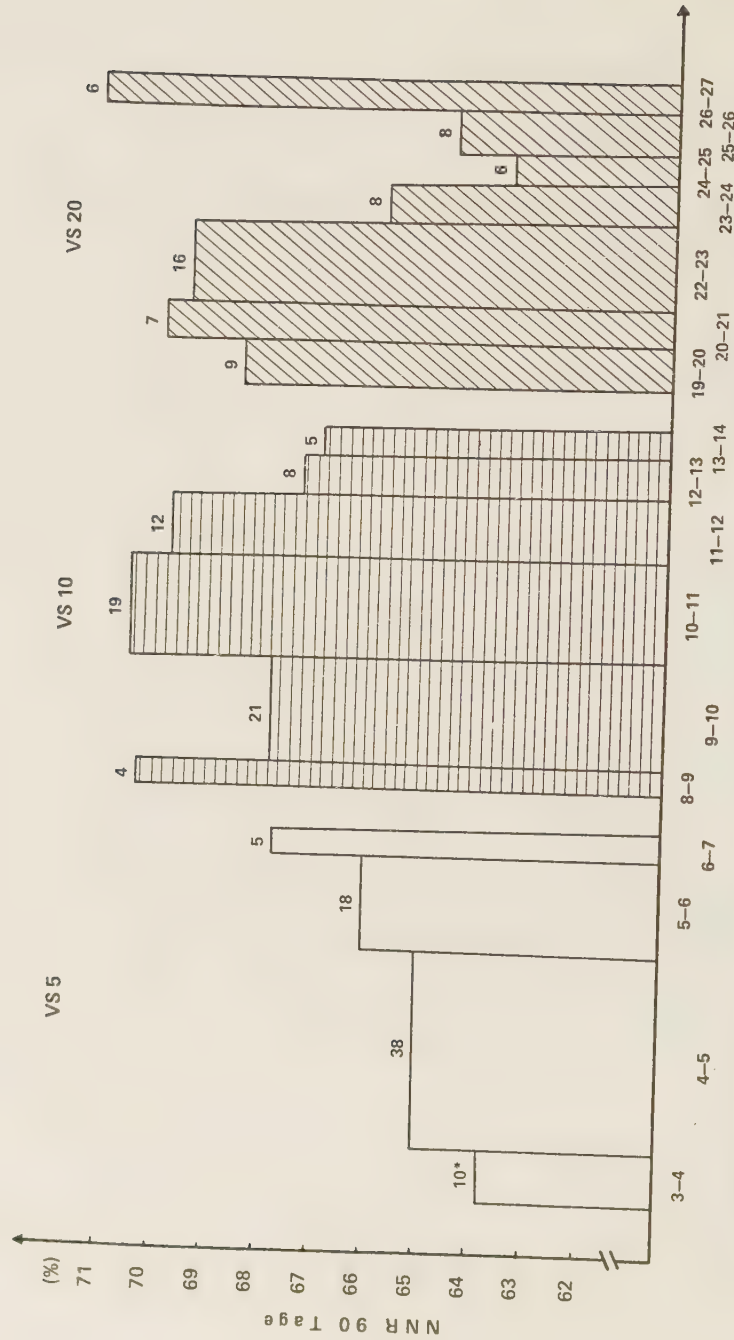
4.1. NR-Ergebnisse der Verdünnungsstufen

Insgesamt konnten 16.903 Erstbesamungen der 72 eingesetzten Ejakulate zur Berechnung der NRR 90 Tage ausgewertet werden. Dabei entfielen auf die VS 5 5.614, auf die VS 10 5.593 und auf die VS 20 5.696 Erstbesamungen.

Die durchschnittlichen NR-Ergebnisse lagen

- für VS 5 bei 65.3 %
- für VS 10 bei 68.7 %
- für VS 20 bei 68.3 % (Tab. 6).

VS 5 und VS 10 sowie VS 5 und VS 20 unterschieden sich hochsignifikant ($p < 0.001$; χ^2 -Test). Zwischen VS 10 und VS 20 bestand kein signifikanter Unterschied ($p > 0.05$; χ^2 -Test). Innerhalb der Verdünnungsstufen differierten die errechneten Prozentsätze an vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen erheblich (vgl. 3.2.4.). Die NR-Ergebnisse dieser Verdünnungschargen sind in Abb. 1 anhand eines Säulendiagrammes wiedergegeben. Dabei kamen nur Verdünnungschargen zur Auswertung, wenn sie in 4 oder mehr Ejakulaten in ihren Verdünnungen mit einer Schwankungsbreite von 1×10^6 vorwärtsbewegliche Spermien nach dem Auftauen übereinstimmten. Je weniger Verdünnungschargen nämlich vertreten waren, desto weniger zeigte sich eine Beeinflussung der Befruchtungsrates durch die Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen und desto mehr dürften Einflußfaktoren wie z. B. der des Bullen zum Tragen kommen.



Durchschnittliche Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien ($\times 10^6$) nach dem Auftauen pro Samendosis und Ejakulatscharge

* Die Zahl auf den Säulen gibt die Anzahl der Ejakulatschargen, die in ihren Verdünnungen übereinstimmen, wieder ($\pm 1 \times 10^6$ vorwärtsbewegliche Spermien nach dem Auftauen).

Abb. 1: NR-Ergebnisse (NRR 90 Tage) der Verdünnungschargen der Ejakulate ($n \geq 4$), ausgewertet wurden hierbei nur Verdünnungen, die in mindestens 4 Chargen vertreten waren.

Tab. 6: NR-Ergebnisse der Verdünnungsstufen (NR 90 Tage) bei den durchgeführten 16.903 Erstbesamungen (EB).

Verdünnungsstufe	NRR (%)	Anzahl der EB
VS 5	65.3 ^a	5.614
VS 10	68.7 ^b	5.593
VS 20	68.3 ^c	5.696

Differenz a - b: signifikant ($p < 0.001$; χ^2 -Test)

Differenz a - c: signifikant ($p < 0.001$; χ^2 -Test)

Differenz b - c: nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test)

4.2. NR-Ergebnisse der Bullenbefruchtergruppen unter Einbeziehung der Verdünnungsstufen

Von den 16.903 durchgeführten Erstbesamungen (EB) entfielen

- auf die Bullengruppe A (mit gutem Befruchtungsvermögen): 5.634 EB
- auf die Bullengruppe B (mit mittlerem Befruchtungsvermögen): 5.617 EB
- auf die Bullengruppe C (mit schlechtem Befruchtungsvermögen): 5.652 EB

Bei der Auflistung der NR-Ergebnisse wurde deutlich, daß die Befruchtungsergebnisse der Bullengruppen nur bei den Kühen und der Gesamtauswertung der im Versuch getroffenen Einteilung entsprach.

Tab. 7: NR-Ergebnisse der Bullengruppen aufgegliedert in Kalbinnen, Kühen und total.

Bullen- gruppe	Kalbinnen		Kühe		Total	
	90 Tage NR	Anzahl der EB	90 Tage NR	Anzahl der EB	90 Tage NR	Anzahl der EB
A	75.19	1290	67.35	4344	69.15	5634
B	70.91	399	65.90	5218	66.25	5617
C	73.25	2190	63.13	3462	67.08	5652
Ø	73.65	3879	65.65	13024	67.49	16903

Anhand der Tab. 7 wird deutlich, daß die Bullengruppe C mit 2.190 EB relativ häufig, die Bullengruppe B mit 399 EB relativ selten bei Kalbinnen eingesetzt wurde. In Prozenten ausgedrückt haben die Erstbesamungen bei Kalbinnen einen Anteil

- in der Gesamtauswertung von 23 %
- in der Bullengruppe A von 23 %
- in der Bullengruppe B von 7 %
- in der Bullengruppe C von 39 %.

4.2.1. Befruchtungsergebnisse bei Kalbinnen und Kühen

Die Anzahl der auswertbaren Erstbesamungen gliederte sich in 13.024 EB bei Kühen und 3.879 EB bei Kalbinnen auf. Die Trennung ihrer NR-Ergebnisse in die drei Verdünnungsstufen wies folgende Werte auf:

Tab. 8: NR-Ergebnisse der Verdünnungsstufen aufgegliedert in Kühe und Kalbinnen

	Kühe		Kalbinnen	
	90 Tage NR	Anzahl der EB	90 Tage NR	Anzahl der EB
VS 5:	63.4 ^a	4312	71.6 ^a	1302
VS 10:	67.1 ^b	4303	73.9 ^b	1290
VS 20:	66.3 ^c	4409	75.3 ^c	1287

Kühe: Differenz a - b signifikant ($p < 0.001$; χ^2 -Test)

Differenz a - c signifikant ($p < 0.01$; χ^2 -Test)

Differenz b - c nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test)

Kalbinnen: Differenz a - b nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test)

Differenz a - c signifikant ($p < 0.05$; χ^2 -Test)

Differenz b - c nicht signifikant $p > 0.05$; χ^2 -Test)

Die Unterschiede zwischen VS 5 und VS 10 bei den Kühen sowie zwischen VS 5 und VS 20 waren wie bei der Gesamtauswertung signifikant ($p < 0.01$; χ^2 -Test), bei den Kalbinnen zeigten sich zwischen den Verdünnungsstufen VS 5 und VS 20 signifikante Unterschiede ($p < 0.05$; χ^2 -Test). Es wird weiterhin deutlich, daß die Ergebnisse im Gegensatz zu den Kühen bei VS 20 eventuell noch nicht als Optimum anzusehen sind.

Die weitere Aufgliederung der NR-Ergebnisse in die drei Befruchtergruppen wiesen bei den Kalbinnen zwischen den Verdünnungsstufen und den Befruchtergruppen keine statistisch abgesicherten Unterschiede auf (Tab. 9).

Tab. 9: NR-Ergebnisse (NRR 90 Tage) der Befruchtungsgruppen bei Kalbinen.

Bullen- gruppe	VS 5		VS 10		VS 20	
	90 Tage NR	Anzahl der EB	90 Tage NR	Anzahl der EB	90 Tage NR	Anzahl der EB
A	74.3	433	75.8	431	75.3	426
B	67.6	136	68.2	129	76.8	134
C	70.8	733	73.8	730	75.1	727

Differenzen zwischen den Verdünnungsstufen waren nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test).

Bei den Kühen hingegen wurden Unterschiede hinsichtlich Befruchtergruppen und Verdünnungsstufen wesentlich deutlicher.

Tab. 10: NR-Ergebnisse (NRR 90 Tage) der Bullenbefruchtergruppen bei Kühen.

Bullen- gruppe	VS 5		VS 10		VS 20	
	NRR (%)	Anzahl der EB	NRR (%)	Anzahl der EB	NRR (%)	Anzahl der EB
A	64.0 ^a	1.439	69.2 ^b	1.427	68.8 ^c	1.478
B	63.6 ^a	1.742	68.2 ^b	1.727	65.8 ^c	1.749
C	62.5	1.131	63.1	1.149	63.7	1.182

Bullengruppe A: Differenz a - b signifikant ($p < 0.01$; χ^2 -Test)
Differenz a - c signifikant ($p < 0.05$; χ^2 -Test)
Differenz b - c nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test)
Bullengruppe B: Differenz a - b signifikant ($p < 0.05$; χ^2 -Test)
Differenz a - c nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test)
Differenz b - c nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test)
Bullengruppe C: Differenzen zwischen den Verdünnungsstufen sind nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test).

Bei den Bullengruppen A und B werden zwischen VS 5 und VS 10 signifikante Unterschiede sichtbar, bei Gruppe C stieg die NRR geringgradig mit zunehmender Anzahl der Spermien.

4.2.2. Befruchtungsergebnisse bei der Gesamtauswertung

Wie aus den Arbeiten zur Zuchtwertschätzung Fruchtbarkeit (GASTEIGER 1980 und KRÄUSSLICH 1981) und zu den Arbeiten über systematische Einflüsse auf die Erstbesamungsergebnisse (KÖRBER 1985) deutlich wird, hat das Alter bzw. die Anzahl der Laktationen des zu besamenden Tieres einen mitunter erheblichen Einfluß auf die Besamungsergebnisse. Dies bestätigte sich in gewisser Weise auch in den vorliegenden Untersuchungen.

Die NR-Ergebnisse der Kalbinnen lagen bei der NRR 90 Tage um 8,0 Prozent höher als die Ergebnisse der Kühe. Bei der Zusammenfassung der NRR wurden die Ergebnisse der Kalbinnen entsprechend ihrer Differenz zu den Kühen um 8,0 Prozent nach unten korrigiert. Die aus dieser Auswertung resultierenden Befruchtungsergebnisse sind in Tab. 11 zusammengestellt.

Tab. 11: NR-Ergebnisse (NRR 90 Tage) der Bullengruppen bei der Gesamtauswertung mit nach unten korrigierten Kalbinnenwerten.

Bullen- gruppe	VS 5		VS 10		VS 20		ϕ 90 Tage NR
	90 Tage NR	Anzahl der EB	90 Tage NR	Anzahl der EB	90 Tage NR	Anzahl der EB	
A	64.5 ^a	1872	68.9 ^b	1858	68.4 ^c	1904	67.3
B	63.3 ^a	1878	67.6 ^b	1856	66.0 ^c	1883	65.6
C	62.6	1864	64.1	1879	65.0	1909	63.9
ϕ	63.5 ^a	5614	66.9 ^b	5593	66.5 ^c	5696	

Bullengruppe A: Differenz a - b signifikant ($p < 0.01$; χ^2 -Test)

Differenz a - c signifikant ($p < 0.05$; χ^2 -Test)

Differenz b - c nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test)

Bullengruppe B: Differenz a - b signifikant ($p < 0.05$; χ^2 -Test)

Differenz a - c nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test)

Differenz b - c nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test)

Bullengruppe C: Differenzen zwischen den Verdünnungsstufen sind nicht signifikant

Durchschnitt (ϕ): Differenz a - b signifikant ($p < 0.001$; χ^2 -Test)

Differenz a - c signifikant ($p < 0.001$; χ^2 -Test)

Differenz b - c nicht signifikant ($p > 0.05$; χ^2 -Test)

Die Gesamtauswertung bestätigt im wesentlichen die Ergebnisse bei den Kühen. Weitere Einflüsse, wie sie etwa bei der Zuchtwertschätzung Fruchtbarkeit Berücksichtigung finden, blieben hier unberücksichtigt.

Bei der Darstellung der NR-Ergebnisse im Säulendiagramm (Abb. 2) wird nochmals deutlich, daß die Ergebnisse der Bullengruppen A und B bei VS 20 keine weitere Steigerung erfahren, anders hingegen bei der Gruppe C, also den Bullen mit schlechtem Befruchtungsvermögen. Hier wurde bei VS 20 eine weitere Verbesserung der NRR erzielt, so daß für diese Gruppe mit zunehmender Anzahl der Spermiendosis ein steigender Verlauf der NRR resultierte.

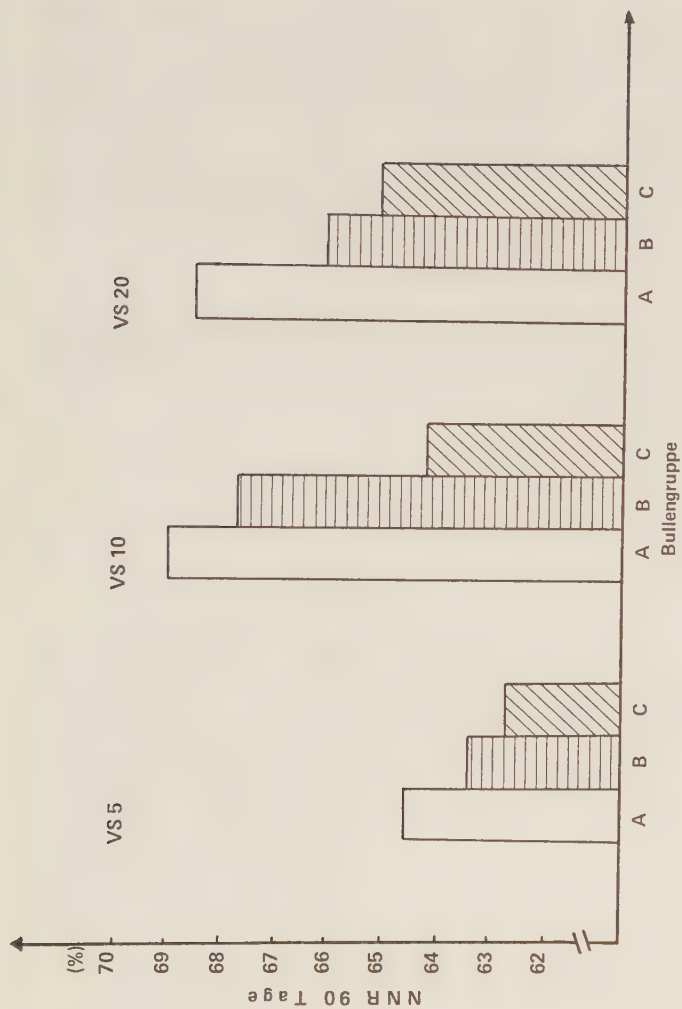


Abb. 2: NR-Ergebnisse (NRR 90 Tage) aus der Gesamtauswertung der Bullengruppen (A, B, C) und Verdünnungsstufen

4.3. Beziehungen zwischen den NR-Ergebnissen und der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien im Nativejakulat und nach dem Auftauen

Anhand von 16.903 Erstbesamungen konnten Zusammenhänge zwischen der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien und der NRR überprüft werden. Hierbei ließen sich bei der Gesamtauswertung und den Kühen schwach ausgeprägte positive Korrelationen nachweisen. Wie aus Tab. 12 hervorgeht, bestanden bei VS 10 und VS 20 signifikant positive Beziehungen zwischen der Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat und den NR-Ergebnissen. Die Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien nach dem Auftauen korrelierte bei VS 10 signifikant positiv mit den NR-Ergebnissen.

Bei den Kalbinnen fand sich bei VS 20 eine schwach negative Korrelation ($r = -0.23$, $p < 0.05$) zwischen der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien im Nativejakulat und der NRR.

Tab. 12: Korrelationskoeffizienten und Signifikanzen zwischen der NRR (90 Tage) und der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien im Nativejakulat (VN) und nach dem Auftauen (VA) in Abhängigkeit von VS 5, VS 10 und VS 20 bei Kühen, Kalbinnen und total.

	VS 5		VS 10		VS 20		Auswertung
VN	-0.03	o	0.29	+	0.22	+	Kühe
	p > 0.05		p < 0.01		p < 0.05		
VA	0.10	o	0.29	+	0.13	o	
	p > 0.05		p < 0.01		p > 0.05		
VN	0.00	o	-0.11	o	-0.23	-	Kalbinnen
	p > 0.05		p > 0.05		p < 0.05		
VA	-0.15	o	0.00	o	-0.04	o	
	p > 0.05		p > 0.05		p > 0.05		
VN	-0.02	o	0.28	+	0.21	+	Total
	p > 0.05		p < 0.01		p < 0.05		
VA	0.08	o	0.25	+	-0.04	o	
	p > 0.05		p < 0.05		p > 0.05		

+ signifikant positiv korreliert
 - signifikant negativ korreliert
 o ohne statistische Absicherung

4.4. Einfluß des Bullen, der Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien pro Samendosis sowie der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien auf die NRR

Zur Beantwortung der Frage, in welchem Ausmaß die NRR vom Bullen, der Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien und der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien beeinflußt wurde, gab eine durchgeführte Varianzkomponentenschätzung Auskunft (Tab. 13). Dabei zeigte der Bulle unter den aufgeführten Komponenten die größte Auswirkung auf die NRR, gefolgt von der Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien pro Samendosis nach dem Auftauen (v-SpD-A) und dem Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen (VA). Die Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat (VN) wies keinen bzw. nur einen geringen Anteil an der Varianz der NRR auf. Drückt man die Werte der Gesamtauswertung (total) für die erklärbare bzw. erklärte Varianz der NRR in Prozenten aus, so gliedern sich die Anteile der Komponenten wie folgt auf:

Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien im Nativejakulat:	2 %
Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien nach dem Auftauen:	16 %
Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen pro Samendosis:	31 %
Bulle:	51 %

Tab. 13: Varianzkomponentenschätzung der Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat (VN), der Vorwärtsbeweglichkeit nach dem Auftauen (VA), der Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien pro Samendosis nach dem Auftauen (v-SpD-A) und des Bullen zur NRR bei Kalbinnen, Kühen und der Gesamtauswertung (total).

Auswertung	erklärte Varianz der NRR			
	VN	VA	v-SpD-A	Bulle
Kalbinnen	0.0	4.8	5.2	5.1
Kühe	0.8	1.2	3.9	4.4
Total	0.3	1.8	3.5	5.7

Einflußfaktoren auf die NRR, wie etwa der Besamungstechniker, der Betrieb, das besamte Tier usw. wurden nicht ausgewertet und gingen somit in die Restvarianz ein.

5. DISKUSSION

In der künstlichen Besamung ist die Optimierung der Anzahl der Spermien pro Besamungsdosis von großer Bedeutung: einerseits soll das genetische Potential der Vartiere maximal genutzt werden, andererseits darf das Befruchtungsergebnis nicht beeinträchtigt werden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, Mindestanforderungen hinsichtlich der Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen pro Samendosis unter Einbeziehung der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien und der Fruchtbarkeit des Bullen zu erarbeiten.

Hierzu wurden drei Verdünnungsstufen (VS) zu 5, 10 und 20×10^6 (VS 5, 10, 20) vorwärtsbeweglicher Spermien pro Samendosis nach dem Auftauen (v-SpD-A) in ihren Besamungsergebnissen miteinander verglichen. Beste Besamungsergebnisse stellten sich in der Gesamtauswertung der Verdünnungsstufen bei VS 10 ein (Tab. 6 und Abb. 1). Zu VS 20 zeigten sich keine deutlichen Unterschiede, jedoch zu VS 5. Hier wurden signifikant schlechtere Besamungsergebnisse erzielt. Diese Ergebnisse wurden in zahlreichen Arbeiten bei verschiedenen Konfektionierungen bestätigt (DUNN et al. 1953, ERICKSON und GRAHAM 1959, SULLIVAN und ELLIOTT 1968, ALMQUIST 1975, FOULKES et al. 1977, FLORIN 1977, GOOSENS und VAN DEN BERG 1980, UWLAND 1984a, KUPFERSCHMIED und SCHWAB 1986).

Diese Arbeiten zeigen, wie auch die vorliegenden Ergebnisse, daß bei entsprechender Reduzierung der Spermien pro Samendosis (SpD) die Befruchtungsfähigkeit deutlich absinkt. Sie bestätigen tendenziell die Erfahrungen von WEITZE (1981) und zeigen, daß auch beim Bullen eine quantitative spermatologische Beziehung gegenüber dem Befruchtungsvermögen besteht. Dieser quantitative Grenzbereich kann aber durch viele Komponenten bestimmt werden: durch den verwendeten Verdünnungsmittel, die Verarbeitungsmethode, das Tiefgefrieren, das Konfektionierungssystem (PICKETT und BERNDTSON 1978), die Auftaumethoden (BERNDTSON und PICKETT 1980, PACE et al. 1981), die Spermienqualität (SULLIVAN 1970, COUROT et al. 1965) und den Bullen (SULLIVAN und ELLIOTT 1968, HAFS et al. 1970, UWLAND 1984a).

Entsprechend diesen Einflußfaktoren verhält sich der quantitative Grenzbereich unterschiedlich. Er bewegt sich in den meisten Arbeiten, legt man eine Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien nach dem Auftauen von 50 % zugrunde, zwischen $3 \text{ und } 8 \times 10^6$ v-SpD-A. Bei den vorliegenden Untersuchungen zeichnet sich dieser Grenzbereich zwischen $5 \text{ und } 10 \times 10^6$ v-SpD-A ab (vgl. Abb. 1). GOFFAUX und TOURNEUR (1965) weisen allerdings auch zwischen $24 \text{ und } 40 \times 10^6$ motilen Spermien vor dem Tiefgefrieren einen signifikanten Unterschied in der NRR nach. Andererseits belegen die Arbeiten von JONDET (1968), STEWART und BENNETT (1968) und HAFS et al. (1970) im fraglichen Grenzbereich keine deutlichen Unterschiede.

Ein Grund für das öftere Ausbleiben signifikanter Unterschiede dürfte darin liegen, daß in vielen Versuchen eine für die Befruchtungsfähigkeit sensible SpD nicht unterschritten wird. Wird sie jedoch unterschritten, so mögen teilweise widersprüchliche Ergebnisse durch unterschiedliche technische Belange (Verdüner, Konfektionierung, Tiefgefrierung usw.) die Auswahl der Bullen und der Besamungsbeauftragten, die Zahl der Erstbesamungen sowie durch verschiedene Interaktionen bedingt sein. Schließlich sind auch Ungenauigkeiten bei der Bestimmung der SpD in Betracht zu ziehen. FOOTE et al. (1978) konnten bei der Bestimmung der Spermienkonzentration von Samenproben hohe Korrelationen zwischen Spektrophotometer und der Blutkörperchenzählkammer ($r = 0.96$) oder dem Coulter Counter ($r = 0.99$) erreichen. Aus diesem Grund dürfte diese potentielle Fehlerquelle bei diesen Ergebnissen keine erhebliche Rolle spielen, weil die Konzentration der Spermien mit einem elektronischen Partikelzählgerät bestimmt wurde.

Bei der Untersuchung des Einflusses des Bullen wird der positive Effekt einer Steigerung der v-SpD-A von $5 \text{ zu } 10 \times 10^6$ besonders bei Bullen mit gutem und mittlerem Befruchtungsvermögen deutlich. Eine weitere Erhöhung der v-SpD-A führt zu keiner Steigerung der Befruchtungsrate. Die geringen Unterschiede von 0,5 - 1,6 % ($p > 0.05$) müssen als übliche Varianz dieses Parameters angesehen werden. Anders jedoch bei den Bullen mit schlechtem Befruchtungsvermögen. Die Unterschiede zwischen den Verdünnungsstufen sind hier weniger deutlich, doch insgesamt lassen die Befruchtungsergebnisse mit zunehmender Anzahl an v-SpD-A ein Ansteigen

ahnen. Dies steht weitgehend in Einklang zu den Ergebnissen von SULLIVAN und ELLIOTT (1968) und UWLAND (1984a).

Bei der Beurteilung der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien und ihrer Auswirkung auf die erzielten NR-Ergebnisse hätte man, wenn überhaupt, bei VS 5 eine Korrelation der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien zu den Befruchtungsergebnissen erwarten sollen. So betonen PICKETT et al. (1978), PACE (1980) und OSMERS (1983), daß dominierende Einflußfaktoren, wie die durch den Überschuß an Spermien kompensierte Befruchtungsfähigkeit, versuchsmäßig berücksichtigt und eliminiert werden. Erst dann könnten bestimmte Merkmale der Spermaqualität oder auch, wie bei OSMERS, Tiefgefrieremethoden hinsichtlich der NRR greifen und würden eben nicht durch einen Überschuß an Spermien maskiert werden. Dies ließ sich aber nicht oder nur zum Teil in den vorliegenden Untersuchungen bestätigen. Bei VS 5 zeigten sich keine Beziehungen zwischen der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien und den Befruchtungsraten. Erst bei VS 10 wurden gering ausgeprägte positive Korrelationen bei Kühen und der Gesamtauswertung (s. Tab. 12) sichtbar, die bei VS 20 nur noch zwischen der Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat und der NRR nachzuweisen waren.

Die Kalbinnen zeigten diesbezüglich keinerlei positive Korrelationen. Bei VS 10 hingegen deutete sich zwischen der Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat und der NRR eine negative Beziehung an, die sich bei VS 20 dann auch statistisch absichern ließ. Der Einfluß der Vorwärtsbeweglichkeit scheint hier durch die gute Fruchtbarkeit der Kalbinnen kompensiert zu werden.

Die Ergebnisse deuten insgesamt daraufhin, daß die NRR in Abhängigkeit von der Fruchtbarkeit des gesamten Tieres und einer bestimmten Spermienanzahl pro Samendosis durch die Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien beeinflusst werden kann. Letztendlich sind aber diese Beziehungen aufgrund ihrer niedrigen Korrelationen nur von geringer Aussagekraft für die Befruchtungsfähigkeit des Ejakulates. Korrelationskoeffizienten von $r < 0.4 - 0.5$ sind hierbei als biologisch fragwürdig anzusehen.

Die vorliegenden Ergebnisse deuten daraufhin, daß erst im quantitativen Grenzbereich, also zwischen 5 und 10×10^6 vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen, ein Einfluß der Vorwärtsbeweglichkeit auf die Befruchtungsrate zum Tragen kommen dürfte. Die quantitative spermatologische Abhängigkeit mag also primär, wie sie bereits von WEITZE (1981) beim Kaninchen erwähnt wurde, auch für das Befruchtungsgeschehen beim Bullen verantwortlich sein.

Der Einfluß der verschiedenen untersuchten Komponenten, also der Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat und nach dem Auftauen, der Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen pro Samendosis und des Bullen auf die Varianz der NRR, wurde mittels einer Varianzkomponentenschätzung (Tab. 13) überprüft. Hierbei zeigte der Bulle die stärkste Auswirkung auf die Befruchtungsergebnisse. Ähnliches konnten SULLIVAN und ELLIOTT (1968), HAFS et al. (1970), MARRE und ROMANOWSKI (1980) und UWLAND (1984a) bestätigen.

Da in der vorgenommenen Versuchsdurchführung der kompensatorische Bereich der SpD noch nicht ganz unterschritten worden sein dürfte, wies die v-SpD-A eine geringere Auswirkung auf die NRR auf als der Bulle mit Ausnahme der Auswertung bei den Kalbinnen. Der Bulle hatte bei den Kühen und der Gesamtauswertung einen ca. dreimal so großen Einfluß auf die NRR als die Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien nach dem Auftauen. Der Einfluß der Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat (Tab. 13) war und dürfte auch fernerhin zu vernachlässigen sein, was eben durch die Mindestanforderung 70 % Vorwärtsbeweglichkeit an das Nativejakulat und die daraus resultierende geringe Schwankungsbreite verursacht werden dürfte.

Die Kalbinnen fielen u. a. auch bei der Varianzkomponentenschätzung etwas aus der Reihe. Das könnte damit zusammenhängen, daß sie insgesamt wohl wesentlich konzeptionsstabiler sind als Kühe. Bei ihrer Auswertung beeinflussen mit Ausnahme der Vorwärtsbeweglichkeit im Nativejakulat, die sich nicht auf die NRR auswirkt, die anderen untersuchten Komponenten die Befruchtungsergebnisse etwa zu gleichen Anteilen (Tab. 13). Dies bedeutet aber letztendlich, daß der Einfluß durch diese Faktoren indifferent ist.

Aus dieser Auswertung bleibt festzuhalten, daß die Fruchtbarkeit des Bullen eine wesentliche Voraussetzung für optimale Befruchtungsergebnisse darstellt und nicht durch eine Erhöhung der SpD, soweit sie im Rahmen dieser Untersuchungen erfolgte, kompensiert werden kann. Ähnliches wies FOOTE (1970b) in seinen Arbeiten nach. Auch hat bei einem extrem vorselektierten Samen, wie es an Besamungsstationen erforderlich ist, die Vorwärtsbeweglichkeit nach dem Auftauen nur eine untergeordnete Rolle. Damit muß die Selektion nach Bullen einer Selektion nach Ejakulaten vorausgehen. Bei einer Selektion nach Ejakulaten darf jedoch nicht vergessen werden, daß eigentlich nur die Gesamtheit aller Samenparameter und ihr Verhältnis zueinander Aussagen über das mutmaßliche Befruchtungsergebnis zulassen. Die Kenntnis und Elimination von Minusvarianten kann eine so gute Selektion der Ejakulate ermöglichen, daß schließlich Korrelationen nicht mehr gegeben sind. Die Struktur der Kopfkappe (Akrosom) scheint hier eine besondere Rolle zu spielen (SAACKE und WHITE 1972). WOOD et. al. (1986) bieten darüber hinaus eine Kombination aus verschiedenen Samenparametern an, die gut mit der NRR korreliert ($r = 0.66$). Für die Arbeit an den Besamungsstationen, d. h. für die möglichst präzise Vorhersage des Befruchtungsvermögens eines Ejakulates, ist die Berücksichtigung von Samenparametern nur dann praktikabel, wenn ihre Untersuchung mit zumutbarem Aufwand durchführbar ist. Zur weiteren Effizierung der Samenausbeute sollten deshalb für die Praxis anwendbare Samenparameter auf ihre Vorhersage des Befruchtungsvermögens einer Samenprobe untersucht werden.

Schlußfolgerungen

Die vorgetragenen Ergebnisse belegen eindeutig, daß unter den Routinebedingungen des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e. V. zur Maximierung der Samenausbeute bei Bullen mit gutem und mittlerem Befruchtungsvermögen 10×10^6 vorwärtsbewegliche Spermien nach dem Auftauen ausreichend sind und hinsichtlich der Befruchtungsergebnisse zu keinen Einbußen führen. Eine Erhöhung der Spermiendosis auf 20×10^6 vorwärtsbewegliche Spermien nach dem Auftauen erbringt gegenüber 10×10^6 keine Vorteile und ist den Ergebnissen zufolge unwirtschaftlich.

Bei Bullen mit schlechtem Befruchtungsvermögen hingegen zeigt sich eine kontinuierliche Steigerung der NR-Ergebnisse mit steigender Anzahl der

vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen. Eine Dosis von 20×10^6 vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen hat hier also ihre Berechtigung. Ob damit bereits das Optimum erreicht ist, läßt sich anhand der Ergebnisse nicht beantworten. Desweiteren ist auch in Grenzfällen zwischen den Gruppen mit mittlerem und schlechtem Befruchtungsvermögen die höhere Anzahl von Spermien pro Besamungsdosis aus Sicherheitsgründen empfehlenswert.

Der Einfluß der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien nach dem Auftauen auf die NRR greift erst im quantitativen spermatologischen Grenzbereich, der den Ergebnissen zufolge zwischen 5 und 10×10^6 vorwärtsbeweglichen Spermien liegen dürfte. Bei der weiteren Erhöhung der Spermiodosis auf 20×10^6 vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen dürfte ihre kompensatorische Wirkung so groß sein, daß der Einfluß der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien nach dem Auftauen auf die Befruchtungsergebnisse hier nicht mehr zum Tragen kommt. Die Fruchtbarkeit des Bullen zeigt bei den hier gewählten Verdünnungsstufen eine deutlich größere Auswirkung auf die NRR als die Spermiodosis oder die Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien nach dem Auftauen. Sie bildet somit eine unverzichtbare Voraussetzung für eine Optimierung der Befruchtungsergebnisse. Für eine maximale Ausschöpfung des Spermas in der KB ist neben der Fruchtbarkeitslage des Bullen die Anzahl und Beschaffenheit, insbesondere auch die Motilität, der Spermien in die Überlegungen miteinzubeziehen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In einem Split-sample-Versuch wurden Mindestanforderungen hinsichtlich der Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien pro Samendosis nach dem Auftauen unter Einbeziehung der prozentualen Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien und der Fruchtbarkeit des Bullen erarbeitet. Die Arbeiten wurden unter den Routinebedingungen des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e. V. durchgeführt.

1. Von 9 positiv erwertgeprüften Bullen der Rasse "Deutsches Fleckvieh" wurden 72 Ejakulate (8 Ejakulate von jedem Bullen) in dem Zeitraum vom 10.09.1986 bis 13.10.1986 gewonnen. Die Bullen waren entsprechend ihren Befruchtungsergebnissen im Jahr 1985 in drei Gruppen zu je 3 Bullen mit gutem (63.1 % NR 90 Tage), mittlerem (60.1 % 90 Tage NR) und schlechtem (57.1 % 90 Tage NR) Befruchtungsvermögen eingeteilt. Pro Ejakulat wurden drei verschiedene Verdünnungsstufen (VS) angelegt und das Einfrierverfahren so abgestimmt, daß nach dem Auftauen 5, 10 und 20×10^6 (VS 5, VS 10 und VS 20) vorwärtsbewegliche Spermien pro Samendosis zu erwarten waren. Zur Ermittlung der Non-Return-Rate wurden jeweils 88 Pailletten pro Verdünnungsstufe und Ejakulat zur Insemination verwendet. Es konnte das Ergebnis von 16.903 Erstbesamungen (EB) ausgewertet werden. Sie verteilten sich auf die drei Verdünnungsstufen wie folgt:

VS 5: 5.614 EB

VS 10: 5.593 EB

VS 20: 5.696 EB

Hierbei wurden 3.879 Kalbinnen und 13.024 Kühe besamt.

2. Die Befruchtungsergebnisse der einzelnen Verdünnungsstufen wurden anhand der Non-Return-Rate (90 Tage) ausgewertet:

VS 5: 65.3 % (Differenz zu VS 10 u. VS 20 $p < 0.001$; χ^2 -Test)

VS 10: 68.7 %

VS 20: 68.3 %

3. Die Befruchtungsergebnisse der Kühe gliederten sich entsprechend den Verdünnungsstufen wie folgt auf:

VS 5: 63.4 % (Differenz zu VS 10 u. VS 20 $p < 0.01$; χ^2 -Test)

VS 10: 67.1 %

VS 20: 66.3 %

Die Non-Return-Rate der Kalbinnen lag um 8.0 % höher als die der Kühen und wies folgende Werte auf:

VS 5: 71.6 % (Differenz zu VS 20 $p < 0.05$; χ^2 -Test)

VS 10: 73.9 %

VS 20: 75.3 %

4. Bei der Gesamtauswertung und den Kühen zeigten die Befruchtungsergebnisse der Bullengruppen mit gutem und mittlerem Befruchtungsvermögen bei VS 10 signifikant ($p < 0.05$; χ^2 -Test) bessere Ergebnisse als bei VS 5.

5. Der Einfluß des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen auf die Non-Return-Rate greift erst im quantitativen spermato-logischen Grenzbereich, der den Ergebnissen zufolge zwischen 5 und 10×10^6 vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen lag.

6. Signifikant positive Korrelationen zwischen der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien im Nativejakulat und der Non-Return-Rate ergaben sich bei der Gesamtauswertung für VS 10 ($r = 0.28$; $p < 0.01$) und für VS 20 ($r = 0.21$; $p < 0.05$) und bei den Kühen für VS 10 ($r = 0.29$; $p < 0.01$) und für VS 20 ($r = 0.22$; $p < 0.05$). Die prozentuale Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien nach dem Auftauen korrelierte mit der Non-Return-Rate signifikant nur bei VS 10 in der Gesamtauswertung ($r = 0.25$; $p < 0.05$) und in der Auswertung der Kühe ($r = 0.29$; $p < 0.01$).

7. In der durchgeführten Varianzkomponentenschätzung der Gesamtauswertung wiesen die untersuchten Komponenten folgende prozentuale Anteile an der erklärten Varianz auf:

Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien im Nativejakulat:	2 %
Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien nach dem Auftauen:	16 %
Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen pro Samendosis:	31 %
Bulle:	51 %

Andere Einflußfaktoren auf die Non-Return-Rate, wie etwa der Besamungsbeauftragte, die Herde, das gesamte Tier usw., gingen in die Restvarianz ein.

8. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß unter den Routinebedingungen des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e. V. bei Bullen mit gutem und mittlerem Befruchtungsvermögen 10×10^6 vorwärtsbewegliche Spermien nach dem Auftauen ausreichend sind und hinsichtlich der Befruchtungsergebnisse zu keinen Einbußen führen. Bei Bullen mit schlechtem Befruchtungsvermögen zeigt sich eine kontinuierliche Verbesserung der NR-Ergebnisse mit steigender Anzahl der vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen. Eine Dosis von 20×10^6 vorwärtsbeweglichen Spermien nach dem Auftauen hat hier ihre Berechtigung. Ob damit für diese Bullengruppe bereits eine optimale Spermiendosis erreicht ist, läßt sich mit diesen Untersuchungen nicht beantworten.

7. SUMMARY

"Investigations to maximize the semen dilution of positive performance-tested bulls for artificial insemination"

The minimum number of progressively motile spermatozoa after thawing per insemination dose in cattle was investigated in a split-sample-trial, including the progressive motility of spermatozoa and the fertility of the bull. The investigations were carried out at the Artificial Insemination Station, Neustadt a. d. Aisch.

1. A total of 72 ejaculates was collected from 9 positive performance-tested bulls of the German Simmental breed (8 ejaculates from each bull) in the period from september 10, 1986 to october 13, 1986. The bulls belonged to the Artificial Insemination Station Neustadt a. d. Aisch. They were divided into three groups according to their non-return-rate (90 days) in the year 1985; one group with a good (63.1 % 90 days NR), one with an average (60.1 % 90 days NR) and one with an insufficient (57.1 % 90 days NR) fertilizing ability. In a split-sample-trial, three dilution levels (VS) of each ejaculate were produced and in accordance with the freezing procedure calculated to result in the desired level of 5, 10 and 20×10^6 (VS 5, VS 10 and VS 20) progressively motile spermatozoa in each dose after thawing. Eighty-eight straws (0,5 ml) per dilution level and ejaculate were used in the artificial insemination to determine the non-return-rate. A total of 16,903 first inseminations were carried out with the experimental semen. The number of first inseminations per dilution level were divided as follows:

VS 5: 5,614

VS 10: 5,593

VS 20: 5,696.

3,879 heifers and 13,024 cows were inseminated.

2. The conception rate (90 days non-return) was:
VS 5: 65.3 % (Difference to VS 10 and VS 20 $p < 0.001$)
VS 10: 68.7 %
VS 20: 68.3 %.
3. In the inseminated cows, the results, classified according the dilution levels, were as follows:
VS 5: 63.4 % (Difference to VS 10 and VS 20 $p < 0.01$)
VS 10: 67.1 %
VS 20: 66.3 %
In heifers, the non-return-rate was 8.0 % higher than in cows. Their fertilizing rate at the dilution levels showed following results:
VS 5: 71.6 % (Difference to VS 20 $p < 0.05$)
VS 10: 73.9 %
VS 20: 75.3 %
4. In the total result and in the cows, the insemination results of the bull groups with a good or average fertilizing ability reached in VS 10 significantly ($p < 0.05$) better results than in VS 5.
5. The influence of the progressive motility of the spermatozoa after thawing on the non-return-rate firstly became effective in the quantitative spermatological margin, which according to the results, lies between 5 and 10×10^6 progressively motile spermatozoa after thawing.
6. In the total results, significant correlations between the percentage of progressive motility of the spermatozoa in the native ejaculate and the non-return-rate were found in VS 10 ($r = 0.28$; $p < 0.01$) and in VS 20 ($r = 0.21$; $p < 0.05$) and in the cows for VS 10 ($r = 0.29$; $p < 0.01$) and for VS 20 ($r = 0.22$; $p < 0.05$). The total results show, that the progressive motility of the spermatozoa after thawing correlated with the non-return-rate of VS 10 ($r = 0.25$; $p < 0.05$) and in the cows ($r = 0.29$; $p < 0.01$).

7. In the variance components estimate of the non-return-rate the examined components showed the following percentages of the explained variance:

Progressive motility of the spermatozoa (native):	2 %
Progressive motility of the spermatozoa (after thawing):	16 %
Number of progressive motile spermatozoa per dosis	
after thawing:	31 %
Bull:	51 %

Other influences on the non-return-rate such as technician, herd, the inseminated animal etc. were not evaluated and therefore are included in the remaining variance.

8. The present results show, that under routine conditions of the Artificial Insemination Station Neustadt a. d. Aisch 10×10^6 progressively motile spermatozoa after thawing were sufficient for bulls with a good or average fertilizing ability. According to the insemination results there were no losses. A continuous rise in the non-return-rate with an increasing number of progressively motile spermatozoa after thawing was found in bulls with insufficient fertilizing ability. In this case, a dose of 20×10^6 progressively motile spermatozoa after thawing is justified. However, these investigations do not answer the question whether this dose is the optimal one for this bull-group.

8. LITERATURVERZEICHNIS

ALMQUIST, J.O. (1975):

Effect of sperm numbers on fertility of frozen bull spermatozoa in skim milk diluent.

J.Dairy Sci. 58, 420-422.

ALMQUIST, J.O. (1976):

Effect of cold shock after thawing and acrosomal maintenance and motility of bovine spermatozoa in plastic straws.

J.Dairy Sci. 59, 1825-1829.

ALMQUIST, J.O., K.E. GRUBE and J.L. ROSENBERGER (1982):

Effect of thawing time on fertility of bovine spermatozoa in French straws.

J.Dairy Sci. 65, 824-827.

ARNOTT, W.J. (1961):

Problems of artificial breeding of cattle.

Aust.Vet.J. 37, 140-145.

BEAN, B. (1972):

Laboratory procedures and field trial results with straws.

Proc.IV.Tech.Conf.Artif.Insem.Reprod., NAAB, Chicago, 77-81.

BERCHTOLD, M. (1982):

Fruchtbarkeitsüberwachung auf Herdenbasis.

In: Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind.

Herausgeber: GRUNERT, E. und M. BERCHTOLD, 441-450.

Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg.

BERGER, W. (1983):

Spermabeurteilung mit Hilfe der Biolumineszenzmessung von ATP, ADP und AMP.

Vet.med.Diss., München.

BERNDTSON, W.E. and R.H. FOOTE (1972):

Bull sperm survival following freezing in ampules, pellets and straws.

VII.Int.Cong.Anim.Reprod.Artif.Insem. 2, München, 1353-1356.

BERNDTSON W.E. and B.W. PICKETT (1980):

Evaluation of frozen semen.

In: MORROW, D.A., Current therapy in theriogenology, 347-354.

W.B.Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto.

BERNDTSON W.E., B.W. PICKETT and C.D. RUGG (1976):

Procedures for field handling of bovine semen in plastic straws.

Proc.VI.Tech.Conf.Artif.Insem.Reprod., NAAB, Columbia, 51-60.

BISHOP, M.W.H., R.C. CAMBELL, J.L. HANCOCK and A. WALTON (1954):
Semen characteristics and fertility in the bull.
J.agric.Sci.Camb. 44, 227-248.

BLOM, E. (1972):
The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal
for a new classification of the bull spermiogram.
Proc.VII.Simporio Int. di Zootechnia, Milano, 125-139.

BUSCH, W. (1982):
Insemination
In: Künstliche Besamung bei Nutztieren.
Herausgeber: BUSCH, W., K. KÖHLE und W. PETER, 307-346.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.

CASSOU, R. (1968):
La miniaturisation des paillettes.
(Die Verkleinerung der Pailletten).
VI.Inter.Congr.Anim.Reprod.Artif.Insem. 2, Paris, 1009-1012.

CASSOU, R. (1972):
Development of fertility rates in terms of age of semen.
VII.Int.Congr.Anim.Reprod.Artif.Insem. 2, München, 1421-1425.

COUROT, M., R. ORTAVANT and E. RICHEME (1965):
Observations on the number of spermatozoa used in the artificial
insemination of cattle.
Elevage Insem. 89, 2-4.

DUNN, H.O., G.L. LARSEN and E.L. WILLET (1953):
Preliminary breeding results with frozen semen.
J.Dairy Sci. 36, 578.

EIBL, K. (1959):
Die Gewinnung des Samens zur Samenübertragung.
In: Lehrbuch der Rinderbesamung.
Herausgeber: EIBL, K., 46-57.
Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg.

EMMENS, C.W. and J. MARTIN (1961):
The effects of equilibration period and sugar content of the diluent on
the survival and fertility of bull spermatozoa deep frozen to -79°C.
IV.Inter.Congr.Anim.Reprod.Artif.Insem.,
The Hague, June 8th, 62.1-62.8.

ERICKSON, W.E. and E.F. GRAHAM (1959):
Factors affecting the fertility of frozen bovine spermatozoa.
J.Dairy Sci. 42, 520-528.

FLORIN, B. (1977):

Effet de la réduction du nombre de spermatozoides par dose sur le pouvoir fécondant du sperme de taureau.

(Die Auswirkung der Reduzierung der Spermienanzahl pro Samendosis auf das Befruchtungsvermögen von Bullensperma).

Elevage Insém. 160, 3-9.

FOOTE, R.H. (1970a):

Inheritance of fertility-facts, opinions, and speculations.

J.Dairy Sci. 53, 936-944.

FOOTE, R.H. (1970b):

Influence of extender, extension rate, and glycerolating technique on fertility of frozen bull semen.

J.Dairy Sci. 53, 1478.

FOOTE, R.H., J. ARRIOLA and R.J. WALL (1978):

Principles and procedures of photometric measurement of sperm cell concentration.

Proc.VII.Tech.Conf.Artif.Insem.Reprod., NAAB, April 55-61.

FOULKES, J.A., D.L. STEWART and C.N. HEBERT (1977):

Artificial insemination of cattle using varying numbers of spermatozoa.

Vet.Rec. 101, 205.

GASTEIGER, F. (1980):

Genetisch-statistische Auswertungen von Fruchtbarkeitsdaten einer Be-Besamungspopulation.

Vet.med.Diss., München.

GOFFAUX, M. and J.C. TOURNEUR (1965):

Pouvoir fecondant du sperme congele de taureaux en fonction du nombre de spermatozoides mobiles par dose.

(Befruchtungsvermögen tiefgefrorenen Bullenspermias in Beziehung zur Anzahl motiler Spermien pro Dosis).

Elevage Insém. 90, 11-16.

GOOSENS, J.M.M. and T.P.R. VAN DEN BERG (1980):

Significance of total sperm numbers and microscopic evaluation of bull semen frozen in pellets in relation to fertility.

Theriogenology 14, 429-432.

GRAHAM, E.F., M.K.L. SCHMEHL, B.K. EVENSEN and D.S. NELLSON (1978):

Viability assays for frozen semen.

Cryobiology 15, 242-244.

GSCHWEND, H-J. (1986):

Untersuchungen über die Motilität von Bullenspermien, insbesondere über den Einfluß ihrer Geschwindigkeit auf das Befruchtungsvermögen.

Vet.med.Diss., München.

HAARD, M.G. and M.C. HAARD (1984):

Influence of reduced sperm number on bull fertility in Artificial Insemination (AI).

X.Int.Congr.Anim.Reprod.Artif.Insem. 3, Illinois, 366-369.

HAFS, H.D., L.J. BOYD and S. CAMERON (1970):

Fertility of cattle inseminated with 12, 24 or 35 million sperm in 0,5 or 0,9 ml.

J.Dairy Sci. 53, 1693-1696.

HAHN, R. (1966):

Zum Verdünnungsgrad des Bullensamens im TG-N₂-Verfahren.

T.U. 21, 164-168.

HAHN, R., B. CASSOU and K. EIBL (1969):

Vergleichende Untersuchungen über die Einfriertechnik des Bullensamens mit Hilfe der Paillette bzw. Ampulle.

Dtsch.tierärztl.Wschr. 78, 346-350.

HARTUNG, J., B. ELPELT und K.H. KLÖSENER (1986):

Statistik, Lehr- und Handbuch der angewandten Statistik.

4. Aufl. R. Oldenbourg Verlag, München, Wien.

JANSON, L. (1976):

Effects in cattle of non-genetic factors and estimation of genetic parameters of female fertility.

XXVII. Annual Meeting of EAAP, Zürich.

JONDET, R. (1968):

Effect of dosage and living sperm number on conception rate of cows inseminated with frozen semen.

VI.Int.Congr.Anim.Reprod.Artif.Insem. 2, Paris, 1061-1063.

JONDET, R. (1972):

Contribution to the assessment of the minimal number of frozen spermatozoa necessary to obtain fertilisation in the cow.

VII.Int.Congr.Anim.Reprod.Artif.Insem. 2, München, 1443-1448.

KLEIN, W. (1985):

Untersuchungen von TG-N₂-Bullensperma von der Lagerung im Container bis zur Insemination unter Berücksichtigung definierter künstlicher Noxen.

Vet.med.Diss., München.

KOERBER, A. (1985):

Systematische Einflüsse auf die Erstbesamungsergebnisse beim deutschen Fleckvieh unter besonderer Berücksichtigung des Besamungszeitpunktes und des Besamungstechnikers (Besamungsgebietes).

Vet.med.Diss., München.

KRÄUSSLICH, H. (1981):
Züchtung auf Fruchtbarkeitsleistungen.
Züchtgskde. 53, 472-480.

KRÄUSSLICH, H., K. OSTERKORN und H. RICHTER (1977):
Die züchterische Auswertung von Non-Return-Werten in Besamungspopulationen.
Züchtgskde. 49, 92-98.

KRAUSE, D. (1966):
Untersuchungen am Bullensperma unter Berücksichtigung der fertilitätsdiagnostischen Bedeutung der Befunde.
Habil.-Schr., Hannover.

KUPFERSCHMIED, H., C. GAILLARD und J. RANARISON (1981):
Anzahl Spermien pro Besamungsdosis und Nonreturnrate beim Rindvieh.
Zuchthyg. 16, 206-211.

KUPFERSCHMIED, H. und C. GAILLARD (1981):
Auftauzeit von Rindersperma und Besamungsergebnisse.
Mitteilungen Schweiz. Verbandes Künstliche Besamung 19, 33-34.

KUPFERSCHMIED, H. und W. SCHWAB (1986):
Anzahl Spermien pro Besamungsdosis und Nonreturnrate beim Rind.
Zuchthyg. 21, 29-32.

LEIDL, W. (1966):
Fortpflanzungsbiologische Voraussetzungen für die Anwendung der künstlichen Besamung.
Tierzüchter 18, 696-698.

LEIDL, W. (1980):
Aspekte aus der Spermatologie.
XXX.Int.Fachtagung "Fortpflanzung und Besamung", Wels, Österreich.

LINFORD, E., F.A. GLOVER, C. BISHOP and D.L. STEWART (1976):
The relationship between semen evaluation methods and fertility in the bull.
J.Reprod.Fert. 47, 283-291.

LINFORD, E., D.L. STEWART and C.N. HEBERT (1977):
The addition of hydrolytic enzymes to bull semen diluents over a range of spermatozoan concentrations.
Brit.Vet.Journal 133, 9.

MACMILLAN, K.L. and J.D. WATSON (1975):
Fertility differences between groups of sires relative to the stage of oestrus at the time of insemination.
Anim.Prod. 21, 243-249.

MAIJALA, K. (1978):

Breeding for improved reproduction in cattle.
IXXX. Annual Meeting of EAAP, Stockholm.

MARRE, H. und W. ROMANOWSKI (1980):

Vergleichende Studie verschiedener Spermienkonzentrationen bei der Besamung mit der Minitüb-Methode.
Rinderproduktion 44, 15.

OLTENACU, E.A.B., R.H. FOOTE and B. BEAN (1980):

Effects of two simulated semen culling programs on predicted fertility in an artificially inseminated cow population.
J.Dairy.Sci. 63, 1351-1355.

OSMERS, H. (1983):

Vergleichende Tiefgefrierversuche an Bullensperma unter Verwendung eines computergesteuerten programmierten Einfrierverfahrens mit induzierter Kristallisation (Seeding).
Vet.med.Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.

PACE, M.M. (1980):

Fundamentals of assay of spermatozoa.
IX.Int.Congr.Anim.Reprod.Artif.Insem. 1, Madrid, 133-146.

PACE, M.M. and J.J. SULLIVAN (1978):

A biological comparison of the 0,5 ml ampule and 0,5 ml French straw systems for packaging bovine spermatozoa.
Proc.VII.Tech.Conf.Artif.Insem.Reprod., NAAB, Madison, 22-32.

PACE, M.M., J.J. SULLIVAN, F.I. ELLIOTT, E.F. GRAHAM and G.H. COULTER (1981):

Effects of thawing temperature, number of spermatozoa and spermatozoa equality on fertility of bovine spermatozoa packaged in 0,5 ml french straws.
J.Anim.Sci. 53, 693-701.

PAPA, F.O. (1982):

Motilität und Akrosomintegrität als Fruchtbarkeitsparameter tiefgefrorenen Bullenspermien in Abhängigkeit von verschiedenen Auftauverfahren unter Berücksichtigung von Kälteschock-, Thermoresistenz- und Sephadex-filtrertest.
Vet.med.Diss., Hannover.

PHILIPSEN, H. (1982):

Frugtbarhedsresultater efter insemination med 20 og 30 mill. spermier pr. dosis.
(Befruchtungsergebnisse beim Rind nach Insemination von 20 oder 30 Millionen Spermien pro Dosis).
Arsberetn. 1982, 25, 91-99, Kopenhagen.

- PICKETT, B.W., R.C. jr. HALL, J.J. LUCAS and E.W. GIBSON (1964):
Influence of sperm number on fertility of frozen bovine semen.
J.Dairy Sci. 47, 916-919.
- PICKETT, B.W. and W.E. BERNDTSON (1978):
Principles and techniques of freezing spermatozoa.
In: SALISBURY, G.W., N.L. VAN DEMARK and J.R. LODGE, Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle, 494-554, 2nd edition, Freeman and Company, San Francisco.
- PICKETT, B.W., W.E. BRENDTSON and J.J. SULLIVAN (1978):
Influence of seminal additives and packaging systems on fertility of frozen bovine spermatozoa.
J.Anim.Sci. 47 (Suppl. II), 12-47.
- PICKETT, B.W., A.K. FOWLER and W.A. COWAN (1960):
Effects of continuous and alternating storage temperatures of -79 and -196°C on motility of frozen bull semen.
J.Dairy Sci. 43, 281-283.
- PILZ J., W. JENICHEN und W. PETER (1982):
Möglichkeiten zur Steigerung und Stabilisierung der Befruchtungsergebnisse beim Rind durch Optimierung des Pelletverfahrens.
Tierzucht 36, 433-436.
- ROOS, B., H. BADER, J. PFEILSTICKER und H. MARRE (1974):
Untersuchungen zur Konfektionierung von Bullensperma in Minitübrröhrchen.
Dtsch.Tierärztl.Wschr. 81, 610-614.
- SAACKE, R.G. (1984):
Semen quality.
Proc.X.Tech.Conf.Artif.Insem.Anim.Reprod., NAAB, Milwaukee, 30-36.
- SAACKE, R.G. and J.M. WHITE (1972):
Semen quality tests and their relationship to fertility.
Proc.II.Tech.Conf.Artif.Insem.Anim.Reprod., NAAB, Chicago, 22-27.
- SCHMIDT, D. und K. MUDRA (1971):
Befruchtungsvermögen pelletierten Bullenspermas in Abhängigkeit von der Spermienzahl je Besamungsdosis.
Fortpflanz.Besam.u.Aufzucht Haustiere 7, 1-9.
- SCHMIDT, D. und K. MUDRA (1974):
Einfluß der Spermienzahl je Besamungsdosis auf die Befruchtungsergebnisse pelletierten Bullenspermas.
Archiv für Tierzucht 17, 13-20, Schönnow (DDR).

SHANNON, P. (1978):

Factors affecting semen preservation and conception rates in cattle.
J.Reprod.Fert. 54, 519-527.

STEWART, D.L. and G.H. BENNETT (1968):

The minimum number of spermatozoa per frozen semen insemination compatible with normal fertility in cattle.
VI.Int.Congr.Anim.Reprod.Artif.Insem. 2, Paris, 1167.

SULLIVAN, J. (1970):

Sperm numbers required for optimum breeding efficiency in cattle.
Proc.III.Tech.Conf.Artif.Insem.Anim.Reprod., NAAB, Chicago, 36-43.

SULLIVAN, J.J. and F.I. ELLIOTT (1968):

Bull fertility as affected by an interaction between motile spermatozoa concentration and fertility level in artificial insemination.
VI.Int.Congr.Anim.Reprod.Artif.Insem. 2, Paris, 1307-1311.

UWLAND, J. (1984a):

Relationship between the number of inseminated spermatozoa and conception in dairy cattle.
Tijdschrift voor Diergeneskunde 109, 405-412.

UWLAND, J. (1984b):

Possibilities and limitations of semen evaluation for the prognosis of male fertility.
In: COUROT, M., The male in farm animal reproduction, 269-289, Marinus Nijhoff Publishers, Boston, Dordrecht, Lancaster.

VAN DUIJN, C.jr. (1971):

Beziehungen zwischen den Eigenschaften des Samens und der Befruchtungsfähigkeit.
Dtsch.tierärztl.Wschr., 78, 134-139.

WEITZE, K.F. (1981):

Tiefgefrierkonservierung von Kaninchensperma.
Zuchthyg. 16, 212-218.

WOOD, P.D.P., J.A. FOULKES, R.C. SHAW and D.R. MELROSE (1986):

Semen assessment, fertility and the selection of Hereford bulls for use in Artificial Insemination.
J.Reprod.Fert. 76, 783-795.

ZIEGLER M. (1984):

Beziehungen zwischen Sperma und Fruchtbarkeitsmerkmalen bei Besamungsbullen an der Besamungsstation der Firma Meggle, Reitmehring-Rottmoos.
Vet.med.Diss., München.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. W. Leidl für die Überlassung des Themas und die stets gewährte Unterstützung.

Bei den Direktoren des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e. V., Herrn Dr. R. Hahn und Herrn W. Breuer, möchte ich mich für die Möglichkeit zur Durchführung der Versuche sowie für die finanzielle Unterstützung aus Mitteln der Dr. Dr. h.c. Karl Eibl-Stiftung bedanken.

Bedanken möchte ich mich weiterhin bei allen Besamungsbeauftragten, die an diesem Versuch mitgewirkt haben, für ihre sorgfältige Mitarbeit.

Gedankt sei auch Herrn Dr. W. Lorrmann für seine Beratung während der Planung und Durchführung des Versuches. Mein Dank gilt auch allen Mitarbeitern des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e. V., die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben.

Herrn Professor Dr. Dr. Osterkorn danke ich für die immer gewährte Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. H.-J. Gschwend für seine hilfreiche Beratung während der Versuchsdurchführung sowie für die Durchsicht der Arbeit und Frau A. Breidenstein für die unermüdliche Hilfe bei der redaktionellen Ausarbeitung.

LEBENS LAUF

Am 22. November 1957 wurde ich als Sohn des Landwirtes Georg Schuh und seiner Ehefrau Felicitas Schuh, geb. Leidenberger geboren.

Nach vierjähriger Volksschulzeit in Schauerheim, Landkreis Neustadt a. d. Aisch - Bad Windsheim, wechselte ich 1968 auf das humanistische Friedrich-Alexander-Gymnasium in Neustadt a. d. Aisch über und legte dort im Juni 1977 die Reifeprüfung ab.

Von September 1977 bis März 1978 war ich beim Besamungsverein Neustadt a. d. Aisch e. V. als Praktikant tätig, anschließend absolvierte ich den Lehrgang zum Besamungswart an der Dr. Dr. Eibl-Ausbildungsstätte und war beim Besamungsverein Neustadt a. d. Aisch e. V. bis April 1980 als Besamungsbeauftragter angestellt.

Im Sommersemester 1980 begann ich dann mit dem Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Freien Universität Berlin. Zum Wintersemester 1983/84 wechselte ich nach München und setzte an der Ludwig-Maximilians Universität mein Veterinärstudium fort, das ich am 30.10.1985 mit dem Staatsexamen abschloß.

Von Dezember 1985 bis April 1986 war ich als freier Mitarbeiter in der Großtierpraxis bei Dr. R. Mezger in Calw tätig.

Seit Mai 1986 bin ich mit vorliegender Arbeit beschäftigt.

